

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA

ADELSILENE DAS GRAÇAS CAVALCANTI VERAS

**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL EROSIVO DE SUCOS DE FRUTAS TROPICAIS
BRASILEIRAS**

**TESE DE DOUTORADO APRESENTADA
À FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE
PIRACICABA DA UNICAMP PARA
OBTENÇÃO DO TÍTULO DE DOUTOR
EM ODONTOLOGIA NA ÁREA DE
CARIOLOGIA.**

ORIENTADOR: Prof^a Dr^a. Cíntia Pereira Machado Tabchoury

CO-ORIENTADOR: Prof. Dr. Jaime Aparecido Cury

**ESTE EXEMPLAR CORRESPONDE À VERSÃO FINAL DA TESE/DISSERTAÇÃO DEFENDIDA
PELA ALUNA, E ORIENTADA PELA PROFA. DRA. CÍNTIA PEREIRA MACHADO
TABCHOURY**

Assinatura do Orientador

PIRACICABA

2011

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA POR
GARDÊNIA BENOSSI – CRB8/8644 - BIBLIOTECA DA
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA DA UNICAMP

V58a

Veras, Adelsilene das Graças Cavalcanti, 1964-
Avaliação do potencial erosivo de sucos de frutas tropicais
brasileiras / Adelsilene das Graças Cavalcanti Veras. --
Piracicaba, SP : [s.n.], 2011.

Orientador: Cínthia Pereira Machado Tabchoury.
Coorientador: Jaime Aparecido Cury
Tese (doutorado) - Universidade Estadual de Campinas,
Faculdade de Odontologia de Piracicaba.

1. Frutas - Amazônia. 2. Dentes - Erosão. 3. Esmalte dentário.
I. Tabchoury, Cínthia Pereira Machado. II. Cury, Jaime Aparecido.
III. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de
Odontologia de Piracicaba. IV. Título.

Informações para a Biblioteca Digital

Título em Inglês: **Assessment of the erosive potential of brazilian tropical
fruit juices**

Palavras-chave em Inglês:

Fruits - Amazônia

Teeth - Erosion

Dental enamel

Área de concentração: Cariologia

Titulação: Doutor em Odontologia

Banca examinadora:

Cínthia Pereira Machado Tabchoury [Orientador]

Maria Augusta Bessa Rebello

Lívia Maria Andaló Tenuta

Pedro Luiz Rosalen

Fábio Hiroyuki Ogata Mitsui

Data da defesa: 22-07-2011

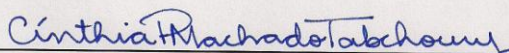
Programa de Pós-Graduação: Odontologia

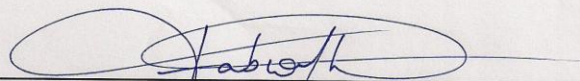


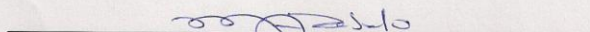
UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
Faculdade de Odontologia de Piracicaba

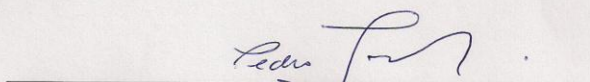


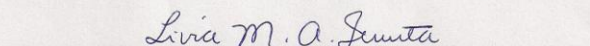
A Comissão Julgadora dos trabalhos de Defesa de Tese de Doutorado, em sessão pública realizada em 22 de Julho de 2011, considerou a candidata ADELSILENE DAS GRAÇAS CAVALCANTI VERAS aprovada.


Profa. Dra. CINTHIA PEREIRA MACHADO TABCHOURY


Prof. Dr. FABIO HIROYUKI OGATA MITSUI


Profa. Dra. MARIA AUGUSTA BESSA REBELO


Prof. Dr. PEDRO LUIZ ROSALEN


Profa. Dra. LÍVIA MARIA ANDALÓ TENUTA

Dedico este trabalho a minha mãe por seu exemplo de acreditar e buscar nossas realizações. Mãe, você sempre será meu maior exemplo.

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

À minha “orientadora-amigona” **Profa Dra Cíntia Pereira Machado Tabchoury**, responsável pela minha formação de pesquisadora, professora e por ser companheira fiel. Exemplo de caráter e honestidade e por seu sim decisivo nesta minha jornada e oportunidade de crescer cientificamente, meu eterno agradecimento;

Agradeço por estar presente nesta etapa da minha vida. Por sempre me incentivar a superar os limites. Pela amizade e compreensão em todos os momentos.

Ao meu co-orientador **Prof Dr Jaime Aparecido Cury**, também muito responsável pela minha formação acadêmica, exemplo de vitória e grandes conquistas. Agradeço incondicionalmente por todo conhecimento transmitido.

Ao nosso colaborador especial **Prof. Dr. Anderson Takeo Hara**, sua participação neste trabalho foi importantíssimo. Obrigada pela disponibilidade e presteza.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Estadual de Campinas, na pessoa de seu Magnífico Reitor Prof. Dr. Fernando Ferreira Costa.

À Faculdade de Odontologia de Piracicaba, na pessoa de seu Diretor, Prof. Dr. Jacks Jorge Júnior.

À Coordenadora dos Cursos de Pós-Graduação da FOP-UNICAMP, Profa. Dra. Renata Cunha Matheus Rodrigues Garcia.

À Profa. Dra. Cíntia Pereira Machado Tabchoury, Coordenadora do Programa de Pós-Graduação em Odontologia.

À Universidade do Estado do Amazonas, na pessoa de seu Magnífico Reitor José Aldemir de Oliveira e ao Coordenador do DINTER, Prof. Dr. Fábio Mitsui.

À Profa. Dra. Astrid Liberato pela ajuda preciosa ao meu desenvolvimento científico, profissional e intelectual. Minha amiga sua ajuda foi mais que fundamental.

A FAPEAM pela bolsa concedida e primoroso incentivo aos pesquisadores do estado do Amazonas.

Aos funcionários da biblioteca da FOP-UNICAMP na pessoa da funcionária Marilene Girello.

Ao INPA, na pessoa de seu diretor Adalberto Luiz Val, pela doação das polpas das frutas utilizadas neste estudo;

Aos técnicos do laboratório de Bioquímica Oral da FOP-UNICAMP, Waldomiro Vieira Filho e José Alfredo da Silva, pela amizade construída durante estes anos e pela colaboração, sempre.

À funcionária da área de Farmacologia da FOP-UNICAMP, Maria Elisa dos Santos pela prontidão em ajudar, pelo carinho e amizade.

Às funcionárias da Pós-Graduação Érica Alessandra Pinho Sinhoretti, Raquel Quintana Marcondes Cesar Sacchi, Roberta Clares Morales dos Santos e Débora Cristina Barbeiro, por todas as orientações e atenção.

Aos colegas de pós-graduação, Rodrigo Alex Arthur, Gláuber Campos Vale, Renzo Alberto Ccahuana-Vásquez e Karla Evelyn Cook pela valiosa convivência. Aos demais colegas do curso de pós-graduação em Odontologia e aos alunos do laboratório de Prótese Parcial Removível.

Aos voluntários que participaram desta pesquisa, pela cooperação, dedicação e amizade.

Aos alunos de Iniciação Científica, Waldemir Francisco Vieira Junior, Patrícia Ribeiro Batista e Lenita Marangoni Lopes pelo imprescindível auxílio e colaboração na realização deste trabalho.

Finalizando, gostaria de agradecer ao meu pai e criador o Senhor de todas as coisas ao Deus de Abrão, Isaac e Jacó e presença marcante em minha vida responsável pelas minhas vitórias e consolo nas minhas falhas, a quem eu sirvo, amo, adoro e temo. Ele é o Senhor da minha vida, que me deu a chance de nascer e crescer no seio da família mais abençoada do mundo, a minha. Amo vocês meus irmãos e amigos sua presença fortalece minha fé, sou abençoada em conviver com pessoas tão especiais, pois vocês fazem especial meu ser e assim levo a paz aonde eu for.

RESUMO

Erosão dental é a perda crônica de tecido dentário ocasionada quimicamente por ácidos, sem ação bacteriana envolvida. Considerando a falta de informações sobre sucos preparados a partir de frutas tropicais e sua relação com a erosão, o objetivo do presente estudo foi avaliar o pH, a acidez titulável e o conteúdo de cálcio dos sucos das frutas araçá-boi, camu-camu, cupuaçu, taperebá e umbu. Também se objetivou verificar a capacidade erosiva dos sucos em um modelo *in vitro* e a capacidade tamponante da saliva sobre os mesmos em um modelo *in vivo*. Para o estudo *in vitro*, foram utilizados blocos de esmalte bovino, selecionados pela dureza de superfície e análise perfilométrica, e aleatorizados entre sete grupos de tratamento (n=5): água destilada deionizada (controle negativo), sucos de araçá-boi, camu-camu, cupuaçu, taperebá e umbu e ácido cítrico 1% pH 3,75 (controle positivo). Foram realizados 4 tratamentos diários dos blocos de esmalte com os sucos e soluções, a partir da imersão individual dos blocos por 2 minutos, a cada 2 horas, por 5 dias. Nos intervalos entre os tratamentos, os blocos foram imersos em solução remineralizadora. Ao final de cada dia e ao final do experimento, os blocos foram avaliados quanto à dureza de superfície e análise perfilométrica, respectivamente. No trabalho *in vivo*, a capacidade tamponante da saliva de 12 voluntários adultos sobre o pH dos sucos e soluções controles foi avaliada. A saliva dos voluntários foi coletada antes do início do estudo, sem e com estimulação, para determinação do fluxo salivar. Os voluntários então colocaram 15 mL do suco ou solução controle na boca, sem bochechar e sem deglutir, por 10 segundos, e todo o líquido presente na boca foi coletado e teve o pH determinado. A saliva não estimulada foi novamente coletada 15, 30, 45, 60, 90 e 120 segundos após exposição aos sucos e solução controle, e o pH de todas estas amostras foi determinado. Os resultados foram submetidos à análise estatística e o limite de significância foi de 5%. O suco de umbu apresentou o menor pH (2,52) e a maior concentração de cálcio (2,06 mM), porém não diferiu do suco de taperebá, e juntamente com os sucos de araçá-boi e camu-camu, apresentou a maior acidez titulável (8,3 mmoles de NaOH para atingir pH 7,0). No estudo *in vitro*, os blocos dentais tratados com araçá-boi, taperebá e umbu apresentaram os maiores percentuais de perda de dureza de superfície, os quais diferiram significativamente dos blocos tratados com o controle positivo e com o suco de cupuaçu. A análise

perfilométrica revelou que os sucos de araçá-boi e umbu resultaram em perda de superfície significativamente maior que o controle positivo. No estudo *in vivo*, a área sob a curva de pH versus tempo foi significativamente menor para todos os sucos estudados do que para o controle negativo. Os resultados do presente estudo sugerem que, apesar dos sucos das frutas estudadas apresentarem potencial para causar erosão, a saliva humana não estimulada é capaz de rapidamente ter seu pH restabelecido após exposição aos sucos.

Palavras-chave: esmalte dental, erosão dental, frutas, Amazônia, estudo *in vitro* e *in vivo*.

ABSTRACT

Dental erosion is the chronic loss of tooth tissue chemically caused by acids, without bacterial action involved. Considering the lack of information on juices prepared from tropical fruits and its relation with erosion, the aim of the present study was to evaluate the pH, titratable acidity and calcium content of juices of the fruits araçá-boi, camu-camu, cupuaçu, taperebá and umbu. It was also the objective to verify the erosive ability of the juices in an *in vitro* model and the buffering capacity of saliva on them in an *in vivo* model. For the *in vitro* study, bovine enamel blocks, selected by surface hardness and profilometry analysis, were used and randomized among seven treatment groups (n=5): distilled deionized water (negative control), juices of araçá-boi, camu-camu, cupuaçu, taperebá and umbu and 1% citric acid pH 3.75 (positive control). Four daily treatments of the enamel blocks with the juices and control solutions were carried out, with individual immersion of the blocks for 2 min, each 2 h, for 5 days. In the intervals between the treatments, the blocks were immersed in remineralizing solution. At the end of each day and at the end of the experiment, the blocks were evaluated with regard to surface hardness and profilometry analysis, respectively. In the *in vivo* study, the buffering capacity of saliva of 12 adult volunteers on the pH of the juices and control solutions was evaluated. The saliva of the volunteers was collected before the beginning of this study, without and with stimulation, for determination of salivary flow. The volunteers then placed 15 mL of the juices and control solutions, without mouthrinsing and swallowing, for 10 seconds, and all the liquid present in the mouth was collected and its pH was determined. The unstimulated saliva was again collected 15, 30, 45, 60, 90 and 120 seconds after exposure to the juices and control solutions, and the pH of all these samples was determined. Data were statistically analyzed and the significance limit was 5%. The umbu juice presented the lowest pH (2.52) and the highest calcium concentration (2.06 mM), however it did not differ from the taperebá juice, and together with the araçá-boi and camu-camu juices, presented the greatest titratable acidity (8.3 mmoles of NaOH to reach pH 7). In the *in vitro* study, the dental blocks treated with araçá-boi, taperebá and umbu presented the highest percentages of loss of surface hardness, which significantly differed from the blocks treated with the positive control and the cupuaçu juice. The profilometry analysis showed that the

araçá-boi and umbu juices resulted in significantly higher surface loss than the positive control. In the *in vivo* study, the area under the pH curve versus time was significantly lower for all the juices studied than the negative control. The data of the present study suggest that, although the fruit juices studied present potential to cause erosion, the unstimulated human saliva is able to quickly have its pH reestablished after exposure to the juices.

Key Words: dental enamel, dental erosion, fruits, Amazon, *in vitro* and *in vivo* study.

SUMÁRIO

PÁGINA

1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DA LITERATURA.....	3
2.1. CONCEITO E FATORES ETIOLÓGICOS DA EROSÃO DENTAL	3
2.2. PREVALÊNCIA DA EROSÃO	6
2.3. DESAFIOS EROSIVOS	8
2.4. EFEITO DO FLÚOR NA EROSÃO DENTAL.....	13
2.5. CÁLCIO E EROSÃO.....	15
2.6. EFEITO PROTETOR DA SALIVA	16
2.7. MÉTODOS DE QUANTIFICAÇÃO DA LESÃO EROSIVA.....	18
2.8. FRUTAS BRASILEIRAS DO NORTE E NORDESTE	21
3. PROPOSIÇÃO	23
4. MATERIAL E MÉTODOS	24
4.1. DELINEAMENTO EXPERIMENTAL.....	24
4.2. PREPARO DOS SUCOS	25
4.3. ANÁLISE DE CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS DOS SUCOS.....	26
4.3.1. DETERMINAÇÃO DO pH INICIAL DOS SUCOS.....	26
4.3.2. DETERMINAÇÃO DA ACIDEZ TITULÁVEL DOS SUCOS.....	26
4.3.3. ANÁLISE DO CONTEÚDO DE CÁLCIO DOS SUCOS	26
4.4. ESTUDO IN VITRO DE CICLAGEM EROSIVA DE pH	27
4.4.1. OBTENÇÃO DOS BLOCOS DE ESMALTE DENTAL BOVINO	27
4.4.2. SELEÇÃO DOS BLOCOS DENTAIS	29
4.4.3. PREPARO DOS BLOCOS SELECIONADOS PARA CICLAGEM.....	31
4.4.4. CICLAGEM EROSIVA.....	32
4.4.5. ANÁLISE DE DUREZA DE SUPERFÍCIE E PERFILOMETRIA FINAL	33
4.5. ESTUDO “IN VIVO” DA CAPACIDADE TAMPONANTE SALIVAR	33
4.5.1. SELEÇÃO DOS VOLUNTÁRIOS.....	33
4.5.2. DESCRIÇÃO DO ESTUDO IN VIVO.....	34
4.6. ANÁLISE ESTATÍSTICA	36
5. RESULTADOS	38
5.1. CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS DOS SUCOS	38

5.2. EXPERIMENTO IN VITRO	40
5.3. EXPERIMENTO IN VIVO	43
6. DISCUSSÃO.....	44
7. CONCLUSÕES.....	48
8. REFERÊNCIAS	49
9. ANEXOS.....	55
CERTIFICADO DE APROVAÇÃO DO CONSELHO DE ÉTICA.....	55
9.1. ANÁLISE EXPLORATÓRIA DE DADOS	56
9.2. ANÁLISE ESTATÍSTICA DAS VARIÁVEIS	58

1. INTRODUÇÃO

A erosão dental é a perda irreversível de tecido dental sadio por processo químico (quelação ou diluição), que não envolve bactérias (Imfeld, 1996) ou placa dental (Millward *et al.*, 1994; Meurman & ten Cate, 1996). A ação química pode ser resultante de fatores intrínsecos, tais como ácido gástrico devido a refluxo, vômito e bulimia (Milosevic & Slade, 1989; Scheutzel, 1996), ou extrínsecos, como fumaças ácidas em certos processos industriais, piscinas cloradas e bebidas ácidas, como sucos cítricos e refrigerantes (Nunn, 1996; Zero 1996). Entretanto, o potencial erosivo pode ser modificado por fatores químicos, biológicos e comportamentais, variando a cada indivíduo (Lussi *et al.*, 2004). A saliva, com suas propriedades tampão e remineralizante, que são inerentes a cada indivíduo, e principalmente pela formação de película adquirida na superfície dental, está entre os fatores biológicos que afetam o potencial erosivo (Sreebny, 2000; Hara *et al.*, 2006). A película adquirida na superfície dental tem função semelhante à barreira de difusão ou membrana seletiva, prevenindo o contato direto entre os ácidos e a superfície dental, e assim inibindo a desmineralização (Amaechi *et al.*, 1999).

Atualmente, devido ao aumento da incidência, estas lesões não cariosas têm recebido atenção maior tanto na clínica odontológica quanto nas pesquisas. Essas lesões podem ser decorrentes de erosão, atrição e abrasão, e são conjuntamente designadas por desgaste dentário (Bartlett *et al.*, 1999). O desgaste dentário, antes menos presente, tem sido atribuído a mudanças nos hábitos nutricionais e no estilo de vida das pessoas (Lussi & Jaeggi, 2006). Recentemente foi relatado para a região sudeste do Brasil que cerca de um terço dos estudantes de 13-14 anos apresenta erosão dental, sem relação com gênero e fatores sócio-econômicos (Aquad *et al.*, 2007).

Dentre os fatores extrínsecos, o potencial erosivo de bebidas pode estar relacionado ao baixo pH (Meurman & ten Cate, 1996; Hara & Zero, 2008). Entretanto, valores de pH fornecem somente uma medida da concentração hidrogeniônica, e estudos mostram que a acidez titulável tem sido um melhor indicador deste potencial (Grenby, 1996). Outro fator importante é a composição de cálcio (Ca) e fósforo inorgânico (P_i) das bebidas, pois agentes erosivos se mostram subsaturados em relação à hidroxiapatita e fluorapatita, induzindo a desmineralização dental (Meurman & ten Cate, 1996). Neste sentido, estudos mostram que a

adição de Ca a bebidas ácidas, como refrigerantes, é capaz de reduzir o seu efeito erosivo (Hughes *et al.*, 1999).

Em relação às bebidas, o consumo de sucos de frutas tem sido cada vez mais recomendado em substituição ao de refrigerantes. Em crianças, a frequência do consumo de sucos de frutas e refrigerantes está associada à erosão grave (Grobler *et al.*, 1989). Larsen & Nyvad (1999) investigaram o potencial erosivo *in vitro* de refrigerantes, águas minerais e sucos de laranja, comparando profundidades de erosão com o pH e a acidez titulável destas bebidas, e relataram que a erosão foi mínima nas bebidas que continham um pH acima de 4,2, mas tornou-se mais evidente em pHs decrescentes abaixo de 4,0.

Mesmo considerando os avanços da pesquisa sobre a composição química de várias frutas da região norte e nordeste do Brasil nos últimos anos, como por exemplo, com o camu-camu, uma fruta amazônica rica em vitamina C, e que apresenta propriedades antioxidativas e antiinflamatórias (Inoue *et al.*, 2008), ainda há escassez de dados sobre as propriedades dos sucos preparados a partir de frutas tropicais brasileiras com grande potencial econômico e farmacológico, e sua relação com a erosão dental. Dentre as frutas mais apreciadas nas regiões norte e nordeste do Brasil, principalmente na forma de suco, destacam-se o araçá-boi, o camu-camu, o cupuaçu, o taperebá e o umbu. Assim, tendo em vista o pouco conhecimento acumulado na literatura sobre as propriedades químicas dessas espécies, estudos que forneçam subsídios para avaliar sua ação sobre o esmalte dental tornam-se imprescindíveis para viabilizar programas de educação e prevenção.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1. CONCEITO E FATORES ETIOLÓGICOS DA EROSÃO DENTAL

Milosevic & Slade (1989) pesquisaram a relação entre fatores intrínsecos e erosão dental, entre eles, a bulimia e anorexia e compararam com a idade, em 50 participantes com desordem alimentares. A saúde oral e as propriedades da saliva foram investigadas. Os pesquisadores procuraram informação sobre o número de vômitos ao dia em um período de seis anos. Voluntários saudáveis participaram como controle. Uma associação entre frequência de episódios de vômito, duração destes episódios e desgaste dentário não foram encontradas, entretanto a frequência do desgaste patológico é significativamente maior no grupo dos participantes portadores de bulimia, especialmente os que apresentaram frequência de episódios maior que 1100 vômitos por ano.

Scheutzel (1996) classifica como fator intrínseco da erosão dental o ácido gástrico que alcança a cavidade oral e os dentes em consequência do refluxo gastresofágico ou vômito persistente em um período longo. Os exemplos de tais circunstâncias incluem desordens alimentares, desordens metabólicas específicas e endócrinas, casos de abuso da droga e determinadas desordens psicossomática, por exemplo: bulimia, anorexia nervosa ou ruminação psicossomática e estresse. Baseado em uma revisão da literatura médica e dental, os sintomas principais de todas as desordens devem ser avaliados e investigados como risco etiológico para erosão.

Imfeld (1996) fez uma revisão da literatura sobre desgaste dental por processos destrutivos sem ação bacteriana, mas que causam irreversibilidade da perda de estrutura dentária como: abrasão, atrição, abfração e erosão, entre outras. O autor atribui a etiologia destes processos à causa multifatorial e conceitua a erosão como um processo destrutivo da superfície da estrutura dentária, causada por ácidos de origem extrínseca ou intrínseca, sem envolvimento bacteriano.

Para Zero (1996), as causas extrínsecas da erosão dental podem ser agrupadas em ambiental, dieta, medicamentos e estilo de vida. Os fatores ambientais envolvem principalmente a exposição ácida de trabalhadores nas fábricas sem as proteções apropriadas.

As piscinas de natação com baixo pH, devido à manutenção inadequada, foram implicadas também. Os fatores dietéticos receberam a maioria da atenção científica e são provavelmente os de maior expressão na sociedade. A maioria dos alimentos e das bebidas ácidas tem o potencial de causar erosão dental na boca humana. A capacidade tamponante do ácido dos alimentos da dieta é considerada mais importante do que seu pH, porque determinará a quantidade real de íons hidrogênio disponíveis para interagir com a superfície do dente. Outros constituintes dos alimentos e das bebidas terão também um efeito modificador, incluindo a concentração de cálcio, do fosfato e do fluoreto, o tipo de ácido, e as propriedades físicas e químicas que influenciam a taxa de depuração na boca. Não é apropriado atribuir graus relativos de risco às substâncias dietéticas diferentes, exceto em categorias gerais, por causa de muitos fatores biológicos e comportamentais humanos que influenciam a expressão clínica da erosão dental. Os tipos de alimentos e bebidas consumidos, e a frequência e a época do consumo são fatores do estilo de vida considerados mais importantes a respeito do desenvolvimento clínico da erosão dental. Os medicamentos com baixo pH e os produtos orais da higiene foram sugeridos também como causas potenciais da erosão. A combinação do consumo frequente de substâncias ácidas e de práticas orais da higiene pode estar ligada ao estilo de vida.

Meurman & ten Cate (1996) conceituaram a erosão dental como etiologicamente causada pelas soluções ácidas em contato com o elemento dentário. O pH crítico do esmalte dental é aproximadamente 5,5 e qualquer solução com um valor de pH mais baixo pode causar a erosão, particularmente se o desafio é de duração longa e o tempo excedente repetido. A saliva e a película salivar neutralizam os ácidos, mas se o desafio for severo, uma destruição total do tecido dentário pode ocorrer. Os estudos ultra-estruturais têm demonstrado que as lesões erosivas acontecem no esmalte prismático, enquanto nos testes padrões característicos de desmineralização os núcleos de prisma ou as áreas interprismática se dissolvem, conduzindo a uma estrutura de favo de mel. No esmalte aprismático o teste padrão da dissolução é mais irregular e as áreas com vários graus de perda mineral são vistas de lado a lado. Na dentina a primeira área a ser afetada é a dentina peritubular; com a lesão progredindo, os túbulos dentinários tornam-se ampliados, mas o rompimento é visto finalmente também nas áreas intertubulares. Se o processo da erosão for rápido, a sensibilidade aumentada dos dentes

é o sintoma apresentado. Entretanto, nos casos com progressão mais lenta, o paciente pode permanecer sem sintomas mesmo que a dentição inteira possa se tornar severamente danificada. A respeito do papel de agentes erosivos, os dados atuais não dispõem de classificação de ácidos diferentes no que diz respeito a seu potencial de causar a erosão. Não há consenso a respeito da eficácia dos fluoretos em impedir a progressão da lesão erosiva ou de como os fatores químicos e estruturais do dente podem modificar este processo patológico.

Barlett *et al.* (1999) fazem uma consideração quanto ao interesse da literatura Européia e Norte Americana sobre a etiologia, aparência, terminologia e definição para o desgaste dentário por processos físicos ou químicos, sem ação bacteriana, especialmente, quando a etiologia é multifatorial e não pode ser denominada, unicamente como, por exemplo a atrição. Neste caso, este desgaste pode estar associado a outros fatores ou causas e assim não teria uma definição específica por tratar-se de desgaste entre dentes antagônicos. Por esta explicação, os autores preconizam e relatam ser mais coerente o termo único de desgaste dental, independente da etiologia. Elucidam ainda, que a pesquisa sobre o desgaste dentário, sem envolvimento bacteriano, é mais predominante na Europa e que os estudos europeus consideram a erosão mais importante que a atrição na etiologia do desgaste dentário.

Lussi *et al.* (2004) fizeram uma revisão da literatura e relataram que muitos ácidos intrínsecos ou extrínsecos são considerados fatores etiológicos para erosão dentária, pois é evidente que algumas comidas ou bebidas são potencialmente erosivas. O objetivo desta revisão foi avaliar o conteúdo e propriedade química de algumas bebidas, hábitos comportamentais dos indivíduos, propriedades protetoras da saliva e a composição dental nos processos erosivos. Os autores concordaram que as bebidas com potencial erosivo devem ser ingeridas com cautela, principalmente por indivíduos com alto risco para erosão dentária, apesar do controle e redução deste consumo ainda ser discutido.

Lussi & Jaeggi (2006) citam alguns fatores ou elementos químicos contidos nas bebidas e em alguns gêneros de alimentos como: baixo pH, quantidade de cálcio, fosfato e baixos índices de fluoreto, relevantes na explicação do aparecimento de lesões erosivas. O grau de saturação de alguns minerais no elemento dentário é igualmente importante. Soluções hipersaturadas em relação ao elemento dentário não causarão dissolução deste, portanto adicionar minerais às bebidas ácidas com capacidades erosivas diminui esta ação erosiva,

assim como, a capacidade tampão da saliva, entretanto não é claramente definido o pH crítico para erosão como o é para cárie.

Featherstone & Lussi (2006) consideram a erosão como a perda de mineral do elemento dentário, quando este é exposto a desafios ácidos e resumem o mecanismo de ação destes ácidos na estrutura dentária iniciando pela difusão através do biofilme dental, da película salivar e por entre as proteínas e lipídeos contidos individualmente por entre os cristais dentários antes da dissolução do esmalte. Classificam, no entanto, o ácido cítrico, entre os ácidos, como o de maior complexidade interativa neste processo, pois além de baixo pH, tem um efeito quelante que favorece maior sequestro de íons cálcio do elemento dentário.

Lussi & Jaeggi (2008) conceituam erosão como uma condição multifatorial de etiologia química, biológica e/ou comportamental, dependente ainda do fator de tolerância, que tem caráter individual. Segundo os autores, esta classificação é apropriada para explicar como alguns indivíduos apresentam lesões erosivas mais e menos severas. Relatam ainda, que a identificação e prevenção destas lesões pode estar paralelo ao conhecimento adquirido sobre suas etiologias e que para prevenir tais lesões, se faz presente a necessidade de estudos sobre estes fatores. Concluem afirmando que a prevenção ainda é o melhor tratamento.

2.2. PREVALÊNCIA DA EROSÃO

Millward *et al.* (1994) relataram que, embora haja uma evidência epidemiológica muito pequena na prevalência e na severidade da erosão nas crianças e nos adultos, os relatórios sobre o tema demonstram que a erosão está aumentando. Este estudo descreve o uso de um índice de reprodutibilidade simples para avaliar a erosão. Um total de 178 crianças com 4 anos foram avaliadas; quase a metade destas crianças mostrou sinais de erosão. O local mais comum afetado era a superfície palatal dos incisivos superiores em 17% das crianças examinadas, mostrando a dentina exposta para mais de 1/3 da superfície do dente. Quando considerada a influência do grupo socioeconômico na prevalência da erosão, quatro de cinco crianças examinadas no grupo socioeconômico baixo mostraram baixos níveis de erosão, enquanto uma alta prevalência foi observada nos grupos socioeconômicos mais elevados.

Correr *et al.* (2009) avaliaram a prevalência de erosão dental entre escolares de 12 anos em Piracicaba, São Paulo/Brasil, levando em consideração gênero, hábito dietético, e

características da saliva (fluxo salivar, capacidade tamponante, e pH) e sua influência sobre a erosão. Para este estudo utilizaram o índice da erosão proposto por O'Sullivan (1998). A prevalência de erosão foi de 26%. Os autores concluíram que os riscos principais da causa da erosão são o consumo de refrigerantes, frutas ácidas e medicações ácidas. Consideraram a prevalência de erosão alta para este grupo de jovens e que as características da saliva parecem não ter influência sobre a erosão.

Arnadottir *et al.* (2010) avaliaram a prevalência de erosão em dentes permanentes na Islândia como parte do Exame Nacional da Saúde Oral. Uma amostra representativa de âmbito nacional de 2251 crianças, com idades de 6, 12 e 15 anos, foi examinada. Foi avaliada a erosão dental para todos os dentes permanentes erupcionados e classificada usando a escala modificada de Lussi (1991). A erosão não foi vista nos dentes permanentes aos 6 anos de idade, mas foi detectada em 16% no grupo de 12 anos, mais freqüentemente nos meninos do que meninas (19,9% meninos, 11,0% meninas; $P < 0,001$). Aos 15 anos, a erosão dental foi identificada em 31% dos indivíduos avaliados (38,3% meninos, 22,7% meninas; $P < 0,001$). A severidade da erosão foi registrada na maior parte como classe I. Somente 5,5% do grupo de 15 anos foi identificado como classe II, na maior parte nos dentes 46 (4,3%) e 36 (4,2%). Para o grupo de 12 anos, 0,9% da prevalência de erosão foi identificado como classe II, principalmente nos dentes 46 (0,8%) e 36 (0,7%). Em nenhum voluntário foi identificada classe III. A aparência clínica mais comum da erosão era a de um copo (ponta das cúspides dos primeiros molares com uma aparência côncava). Os autores concluem que a prevalência da erosão inicia na idade de 12 anos, entretanto esta porcentagem dobra aos 15 anos de idade, sendo mais comum no gênero masculino.

Gurgel *et al.* (2011) avaliaram a prevalência da erosão dental em adolescentes e investigaram a associação entre erosão e características sociais e demográficas. Foram avaliados 414 adolescentes entre 12 e 16 anos de idade, de ambos os gêneros, de escolas públicas e privadas da cidade de Bauru, SP/Brasil. Dois profissionais capacitados e calibrados utilizaram o índice de O'Brien (1994) para analisar o grau da erosão nas regiões palatina dos incisivos superior e oclusal de molares inferior. O gênero, o tipo de escola frequentada, e a renda média da família foram determinados, utilizando um questionário preenchido pelos adolescentes. Os autores concluíram que a prevalência da erosão entre os adolescentes foi de

22%, a face palatina é a mais afetada (16%), entretanto não detectaram diferença significativa entre o gênero e, principalmente, a situação econômica dos adolescentes.

2.3. DESAFIOS EROSIVOS

Touyz & Silove (1993) avaliaram *in vitro* a acidez e a capacidade tamponante de alguns sucos de frutas em temperatura ambiente e compararam com o líquido obtido do congelamento inicial de sucos de frutas. Os sucos foram deixados à temperatura ambiente (25°C) e 100 mL de cada suco usado para determinação do pH e titulação com NaOH 1 M para determinação da capacidade tampão. O restante do suco foi então congelado a -20°C por 24 horas. Após este período, o suco foi retirado do freezer e descongelado, sendo reavaliado quanto ao pH e capacidade tamponante. Os autores concluíram que os sucos frescos, antes de serem congelados, necessitaram de menor quantidade de NaOH para atingir os pHs 5,0, 5,5 e 10, do que os sucos congelados com diferenças estatisticamente significantes ($p < 0,01$).

Grobler *et al.* (1989) pesquisaram a relação entre cinco tipos de sucos naturais e o grau de erosão provocado no esmalte dentário. Os autores advertem que todos os sucos apresentam em seus constituintes diferentes tipos de ácidos e acidez titulável. A lesão provocada no esmalte neste estudo foi mensurada em diferentes etapas do experimento em um período de aproximadamente 40 minutos. Os autores concluíram que o grau de erosão no esmalte dentário é dependente da combinação de fatores como: pH, capacidade tampão, tipos de ácidos e outros componentes químicos presentes nas frutas e que o grau de erosão no esmalte a partir do suco pode ser 5-8 vezes maior que o consumo da fruta triturada.

Grobler *et al.* (1990) avaliaram o grau de erosão em diferentes tempos de exposições a bebidas, incluindo sucos e refrigerantes. A concentração do Ca foi mensurada após cada período de exposição. A quantidade de Ca encontrado nas bebidas após exposição dos blocos de esmalte foi mensurada por espectrofotometria de absorção atômica e os líquidos usados neste estudo foram relacionados pela quantidade de Ca encontrada. Os autores reafirmaram a conclusão de seu estudo anterior, no qual relatam que para lesão erosiva os tipos de ácidos presentes, a capacidade tamponante, o pH e a presença de outros componentes são igualmente importantes.

West *et al.* (1998) objetivaram desenvolver e validar um modelo de estudo no qual fosse possível avaliar a erosão dentária provocada por um único agente etiológico em um breve período de tempo utilizando um método de investigação *in vitro* e *in situ*. Para este objetivo, um dispositivo intra-oral capaz de reter uma amostra do esmalte foi projetado a fim avaliar o efeito do consumo do suco de laranja no esmalte. O estudo foi realizado em um único centro, de forma randomizada, com placebo controlado, cego e desenho cruzado. Dez voluntários participaram deste estudo e cada um consumiu 11 copos de suco de laranja por dia em um período de 15 dias. Os voluntários que consumiram o suco de laranja mostraram significativamente mais erosão nos espécimes do esmalte do que os mesmos voluntários que consumiram água pelo mesmo período. As mensurações foram feitas pela análise de dureza de superfície. A mesma investigação foi executada *in vitro* e novamente o suco de laranja foi significativamente mais erosivo; cerca de 10 vezes mais que no trabalho *in situ*. A dureza de superfície foi avaliada em ambos os estudos *in situ* e *in vitro* e a diferença estatística encontrada foi significante entre áreas expostas e não expostas pós-tratamento com o suco de laranja. Os autores concluíram que este método confirmou o potencial erosivo do suco de laranja e que poderia ter muitas aplicações para estudar a erosão dental sob circunstâncias altamente controladas e períodos de tempo realísticos.

Edwards *et al.* (1999) enfatizam a capacidade de algumas bebidas ácidas resistirem a mudanças de pH provocadas pelo tampão salivar. O objetivo deste trabalho foi mensurar o pH de diversas bebidas, tendo a água como controle negativo. A mensuração do pH foi feita por um peagômetro de bancada e foram adicionados incrementos de 0,5 ml de hidróxido de sódio até que o pH atingisse 10 e foram repetidas três vezes para cada bebida. Concluíram que os sucos ou refrigerantes, com suas capacidades tampão, podem induzir a redução prolongada do pH oral.

Larsen & Nyvad (1999) relatam que a capacidade de um refrigerante ou suco de causar erosão no esmalte dental depende não só do pH da bebida, mas também de seu efeito tampão, pois esta é a capacidade da bebida de resistir a uma alteração de pH, devido, por exemplo, à ação da saliva. O objetivo do presente estudo foi comparar o pH e o efeito tampão de vários refrigerantes com seus efeitos erosivos e a solubilidade da apatita. Neste estudo foram utilizados 18 refrigerantes, águas minerais e sucos disponíveis no mercado

dinamarquês; pH e concentração de cálcio, fosfato e fluoreto foram determinadas. O efeito tampão destas bebidas foi determinado por titulação com NaOH. Dentes humanos (n = 54) foram cobertos com verniz de unha, exceto por uma janela de 3 x 4 mm onde foram expostos a 1,5 litros de bebida por 7 dias ou 24 h sob agitação constante. A profundidade das erosões foi avaliada em seções longitudinais. A profundidade encontrada variou de superfície muito erosionada, 3 mm, corroído pelas bebidas mais ácidas e suco de laranja fresco, para superfícies pouco afetadas, pela maioria das águas minerais. A dissolução do esmalte aumentou inversamente com o pH da bebida e paralelo com a solubilidade da apatita do esmalte. O suco de laranja, pH 4,0, complementado com 40 mmol/l de cálcio e 30 mmol/l de fosfato, não causou erosão no esmalte. Em geral, quanto menor o pH, maior a quantidade de NaOH necessária para elevar o pH à neutralidade.

Lussi *et al.* (2000) compararam o potencial erosivo de diferentes bebidas e alimentos em dentes permanentes e decíduos. A dureza de superfície foi mensurada antes e depois das exposições aos líquidos e concluíram que para este estudo *in vitro* o dente decíduo foi mais susceptível à erosão comparado ao dente permanente.

Cairns *et al.* (2002) investigaram o potencial erosivo de alguns sucos sem e com diluição progressiva por água, mensurando o pH, a capacidade tampão e acidez titulável e o efeito desta diluição no potencial erosivo em um trabalho *in vitro*, onde foram utilizados como controle positivo soluções ácidas de ácido cítrico e ácido clorídrico com pH semelhantes aos líquidos testados. Os autores concluíram que todos os quatro líquidos utilizados apresentaram alto grau de resistência em aumentar o pH somente com a diluição, indicando alta capacidade tampão. Entretanto, a acidez titulável foi reduzida à medida que a bebida ia sendo diluída pela água, bem como sua capacidade erosiva. Os autores sugeriram, portanto que as bebidas ácidas sejam diluídas a fim de diminuir sua capacidade erosiva.

Phelan & Rees (2003) investigaram alguns tipos de chás e avaliaram seu potencial erosivo. Utilizaram para este estudo blocos de esmalte humano, retirados de terceiro molar. Os espécimes incluídos tiveram uma análise perfilométrica de $\pm 0,30 \mu\text{m}$ de deflexão. A superfície do bloco foi isolada, exceto por uma área exposta que permitiu a exposição do bloco aos desafios erosivos. Os blocos foram imersos em 250 ml de chá por 1 hora em banho-maria a uma temperatura de 37°C. Após este período, os espécimes foram lavados e secos e o

isolamento do restante da superfície do bloco foi removido. Uma nova análise perfilométrica foi realizada. O pH dos ácidos testados variou entre 3,1 a 7,1 e foram utilizados de 3,5 a 60,3 ml de NaOH a 0,1 M para neutralizar estes ácidos. Os autores compararam o resultado da análise perfilométrica dos chás com o do suco de laranja, controle positivo, e concluíram que alguns dos chás utilizados tinham comportamento mais agressivo que o suco de laranja.

Rees *et al.* (2005) avaliaram o potencial erosivo de algumas bebidas energéticas, normalmente providas de sucos de frutas ácidas, em blocos de dente humano. Investigaram pH e acidez titulável e mensuraram a lesão erosiva formada. Como controle positivo, foi utilizado suco de laranja, e água como controle negativo. Os blocos incluídos neste estudo foram selecionados pela técnica perfilométrica e apresentaram até $\pm 0,30 \mu\text{m}$ de deflexão. Cinco blocos dentais tiveram suas superfícies isoladas, exceto por uma área, onde foram expostos a 250 ml de cada bebida a 37°C por uma hora. Após este período, os blocos foram lavados com água, secos e o isolamento da superfície removido, sendo analisados novamente em um perfilômetro. Os autores concluíram que muitas das bebidas energéticas a base de sucos ácidos são erosivas.

Ehlen *et al.* (2008) avaliaram, em um estudo *in vitro*, a capacidade de algumas bebidas conhecidas ácidas e largamente consumidas nos EUA causarem lesões erosivas em esmalte e dentina, levando em consideração a associação entre pH e acidez titulável. Para este estudo quatro blocos de esmalte e de dentina, para cada bebida, foram retirados de pré-molares e molares humanos. Os blocos ficaram imersos em 250 ml de cada bebida, respectivamente, por 25 horas, sendo esta trocada a cada 5 horas. Após as 25 horas, os espécimes foram fotografados com máquina polaróide com lente microscópica com aumento de 5 e 10 X, para posterior mensuração das lesões erosivas. Foram feitas três secções para cada bloco e a lesão foi fotografada; a erosão foi identificada pela diferença entre a parte não atingida do bloco e a região com erosão. A área total foi mensurada por imagem digital. Após análise estatística, os autores concluíram que todas as bebidas eram ácidas. A acidez titulável das bebidas energéticas foi maior que dos refrigerantes comuns e a destes maiores que dos sucos 100% e bebidas esportivas. Entretanto, concluíram que as lesões erosivas não estão associadas com o pH e a acidez titulável das bebidas, mas afirmaram que as bebidas populares nos Estados Unidos causam erosão.

Leslie *et al.* (2008) relatam que as bebidas ácidas tem potencial de causar erosão. Neste estudo, os autores mensuraram o valor de pH e acidez titulável de algumas bebidas. Quatro elementos dentários (esmalte e raiz), com um botão (janela) para exposição as bebidas de (1 X 4 mm), foram preparados e imersos em 250ml de cada tratamento por 25 horas. Após este tempo os blocos eram então lavados, secos e fatias de 100-150 µm da lesão erosiva juntamente com parte da estrutura saudável do esmalte ou da raiz foram retiradas e feita a mensuração da lesão erosiva através de uma polaróide com lente microscópica com aumento de 5X e 10X. Três secções foram selecionadas para cada dente e a lesão era então fotografada. A lesão erosiva era estimada entre a média da superfície original do dente e a região de desmineralização formada pela lesão erosiva utilizando o programa Pro Plus de imagem. Os autores concluíram que as bebidas de maior consumo nos EUA tem potencial erosivo tanto para esmalte como para dentina e que as lesões profundas não estariam associadas ao pH das bebidas.

Ablal *et al.* (2009) investigaram, em um estudo *in vitro* utilizando esmalte bovino, o potencial erosivo de algumas bebidas contendo álcool, tendo suco de laranja como controle positivo e água destilada e deionizada como controle negativo. Foram utilizados seis blocos de esmalte de 4 mm x 4 mm, sendo totalmente recobertos por esmalte de unha, com exceção de uma área de 2 x 2 mm, para exposição aos líquidos. Os espécimes foram imersos nos referidos líquidos por 20 minutos, 1 hora e 24 horas sob agitação de 100 rpm. O efeito erosivo foi mensurado por laser quantitativo fluorescente, perfilometria e microrradiografia transversa. Concluíram que as bebidas com álcool testadas tiveram grande potencial erosivo, similar ao suco de laranja.

Murrell *et al.* (2010) objetivaram comparar as propriedades físico-químicas e potencial erosivo entre algumas bebidas mais populares entre o Reino Unido e os Estados Unidos da América. Para os autores, apesar de todas as bebidas escolhidas para estudo serem comuns entre os dois países, algumas diferenças de geodiversidade poderiam influenciar os resultados. Para este estudo foram utilizados 5 dentes humano para cada bebida, esmalte de unha isolou toda superfície dentária, deixando apenas uma janela de 1 x 4 mm que seria exposta a 250 ml da bebida por 25 horas. Os dentes foram seccionados (n=4 secções por dente) e uma porção de 100-150 µm foi retirada da região entre a janela exposta do dente e a parte protegida. A mensuração da lesão erosiva foi realizada utilizando-se microscópio de luz polarizada e um siste-

ma Pro Plus de imagem. Após a análise dos resultados, os autores concluem que em situações laboratoriais similares as propriedades físico-químicas e o potencial erosivo sobre superfície de esmalte diferem entre alguns, mas não entre todas as bebidas estudadas dos dois países.

Creanor *et al.* (2011) comprovaram o papel da saliva como protetor do processo erosivo e observaram o desenvolvimento de lesões erosivas mais profundas com exposições intermitentes a bebidas ácidas, do que com a exposição contínua, considerando o mesmo tempo de exposição.

Lussi *et al.* (2011) estudaram a ação erosiva de alguns alimentos, medicamentos e bebidas em um modelo *in vitro* e determinaram suas propriedades químicas para avaliar seu potencial erosivo. Esmalte dentário humano foi utilizado para este experimento e a quantificação da perda de dureza de superfície foi mensurada após 2 minutos de imersão em 60 ml dos tratamentos propostos e nos próximos 2 minutos de uma nova exposição, antes de cada exposição os blocos de esmalte foram colocados em 20 ml de saliva humana por 3 horas, a fim de ser formada a película adquirida. Para este estudo foram calculados o pH de cada líquido e a acidez titulável; as concentrações de: cálcio, fosfato e flúor também foram mensuradas, além do grau de saturação da hidroxiapatita e fluorapatita. Dos desafios erosivos realizados, todos resultaram em uma redução estatisticamente significativa com exceção do café, algumas medicações, bebidas alcoólicas, água mineral sem gás, chás e iogurtes ($p < 0.01$). Para os autores a expressiva perda de dureza nos dois tempos de exposição pôde ser explicada principalmente pela relação de pH. As outras referências físico-químicas não foram grandemente expressivas quanto à perda de dureza.

2.4. EFEITO DO FLÚOR NA EROSÃO DENTAL

Harding *et al.* (2003) determinaram a prevalência da erosão dental em uma amostra estratificada de crianças de 5 anos e investigaram se os fatores demográficos e dietéticos estavam associados. Uma amostra de 202 crianças de 5 anos foram selecionadas. O desgaste considerado erosivo nas superfícies palatal e labial dos dentes maxilares decíduos foi avaliado. Informações demográficas e dietéticas foram coletadas por meio de um questionário. Os níveis de prevalência de erosão dental em áreas fluoretada e não fluoretada foram similares. Baixo nível sócio-econômico e frequência de consumo de bebidas com sabor

artificial de frutas, bem como refrigerantes, foram associados erosão estendendo até dentina e polpa.

Hooper *et al.* (2007) avaliaram em 15 dias, por meio de estudo *in situ* e *in vitro*, o efeito protetor de um creme dental com flúor, contendo hexametáfosfato de sódio, contra um desafio erosivo do suco de laranja sobre o esmalte dentário. Os autores utilizaram esmalte humano e a perfilometria como técnica para mensurar a lesão erosiva no esmalte dentário exposto. Os pesquisadores relataram que houve mais danos erosivos nos espécimes tratados somente com a água ou creme dental com flúor, que os tratados com o creme dental contendo hexametáfosfato de sódio em ambos os estudos *in situ* e *in vitro*. Os autores concluíram que é possível diminuir o efeito erosivo do suco de laranja com o uso do creme dental contendo hexametáfosfato de sódio.

Ren *et al.* (2009) avaliaram o grau de erosão em 15 blocos de esmaltes tratados com creme dental contendo 5000 ppm de flúor por 2 minutos, e 15 blocos de esmalte sem tratamento, em um modelo *in vitro*. O líquido erosivo foi o suco de laranja e os blocos de esmalte foram imersos por 20 minutos em um período de cinco dias de tratamento. As mensurações da perda de estrutura foram realizadas utilizando microscopia 3D e perfilometria. Os dois métodos demonstraram confiabilidade e o grupo sem flúor apresentou maior perda de superfície. Os autores concluíram que a análise com a microscopia 3D é valiosa para demonstrar a topografia de superfície associada com erosão em esmalte, principalmente se o interesse for demonstrar terapias para diminuir risco de erosão.

Hjortsjo *et al.* (2010) avaliaram o efeito protetor do flúor, em soluções com diferentes pHs a 0,1 M de F, frente aos desafios erosivos sobre esmalte, em um estudo *in vitro*, utilizando a dosagem de cálcio e a perfilometria como fator de análise. Os espécimes foram expostos à solução de ácido cítrico 0,01 e 0,1 M. Sessenta espécimes de esmalte foram utilizados neste estudo, em dois períodos. No primeiro, cinco grupos (6 espécimes por grupo) foram expostos a 5 ml de solução de ácido cítrico a 0,01 M por 1 min. Os outros 30 espécimes foram expostos ao ácido cítrico 0,1 M, por 10 min. Ambos os grupos foram expostos a tratamentos com soluções de flúor pelo mesmo período de 1 e 10 minutos antes do desafio e um grupo controle foi tratado com água destilada e deionizada. Na mensuração da perda de mineral pela avaliação do cálcio, os autores observaram diferença entre os espécimes tratados

com solução de flúor e os do grupo controle. Entretanto, na análise perfilométrica nenhuma significância foi encontrada entre os grupos com apenas um minuto de exposição à solução fluoretada, entretanto foi encontrada significância nos que tiveram 10 minutos de exposição a esta solução. Os autores concluíram que, em trabalhos para identificar eficácia do tratamento com flúor nos desafios erosivos, a melhor técnica é a dosagem de cálcio.

2.5. CÁLCIO E EROSÃO

Hughes *et al.* (1999) relataram que, em estudos *in vitro* e *in situ* prévios, o suco de groselha com adição de Ca demonstrou ser menos erosivo para esmalte quando comparado com outros sucos de frutas de baixo pH. Assim, o principal objetivo deste estudo foi demonstrar que a formulação final da bebida apresentou baixa capacidade erosiva. O objetivo secundário era obter mais dados sobre a capacidade erosiva de outros sucos de frutas e se a erosão era influenciada pela posição dos espécimes (anterior ou posterior do palato). Quinze voluntários participaram deste estudo. Um dispositivo palatino foi utilizado, contendo 4 blocos de esmalte. Os voluntários bebiam 250 ml destes sucos 4 vezes ao dia em 15 dias de experimento. A mensuração da lesão erosiva foi feita nos dias 2, 5, 10 e 15 por perfilometria. Os autores concluíram que o suco modificado com adição de cálcio causou mínima erosão dental.

Davis *et al.* (2007) analisaram pH e acidez titulável de sucos 100% puros com cálcio adicionado em sua composição. Neste estudo, os autores avaliaram o efeito erosivo destas bebidas sobre o esmalte e dentina de dentes humanos. Os dentes foram preparados com uma janela no esmalte e outra na dentina e o restante foi isolado com esmalte de unha. Os dentes foram suspensos em 250 ml de suco por 25 horas a temperatura ambiente. A análise da profundidade da superfície da lesão erosiva foi mensurada por meio de análise de imagem digitalizada. Os autores concluíram que a adição de cálcio nas bebidas diminui o poder erosivo dos sucos.

Hara & Zero (2008) avaliaram algumas bebidas com e sem adição de cálcio quanto ao seu potencial erosivo. Para este estudo selecionaram 10 bebidas encontradas nos supermercados sendo 5 com e 5 sem suplemento de cálcio e as testaram em duas fases. Na primeira fase, o pH, a acidez titulável e a concentração total de cálcio, fosfato e flúor foram

mensurados nas bebidas. Na segunda fase, a capacidade erosiva em esmalte de cada bebida foi mensurada. Os espécimes foram imersos em 30 ml das respectivas bebidas por até 120 minutos. As lesões erosivas foram analisadas por perfilometria e perda de dureza de superfície. Os autores concluíram que os espécimes tratados com bebidas suplementadas com cálcio tiveram menor grau de erosão que os tratados com bebidas sem suplemento de cálcio e que conteúdo de cálcio, assim como o pH, foram bom indicadores do potencial erosivo das bebidas testadas.

2.6. EFEITO PROTETOR DA SALIVA

Amaechi *et al.* (1999) investigaram a relação entre a espessura da película salivar sobre o elemento dentário e a severidade erosiva, bem como o efeito protetor desta película salivar contra a erosão dentária. Inicialmente uma área do bloco de esmalte bovino foi colocada em contato com a saliva por 1 hora e a película formada foi avaliada. Os blocos foram então expostos ao suco de laranja puro e o grau de erosão foi avaliado por microrradiografia. Os autores concluíram que a película salivar formada variou no mesmo indivíduo, dependendo do arco dentário (superior ou inferior) em que fora colocado o bloco de esmalte, bem como entre os indivíduos. Entretanto, uma relação inversa foi observada entre o grau de erosão e espessura salivar. Significante diferença em erosão foi observada entre os blocos com e sem película salivar. Os autores concluíram que a película salivar protege o dente contra erosão.

Hugo *et al.* (2006) avaliaram o efeito erosivo do vinho sobre blocos de esmalte dental bovino imerso previamente em saliva ou em água por 12 horas em um trabalho *in vitro*. Cinquenta por cento da superfície dos blocos foi isolada com esmalte de unha e os blocos foram imersos em vinho por uma hora. Os autores utilizaram a microscopia eletrônica de varredura para análise dos resultados e concluíram que não houve diferença no efeito erosivo entre os blocos que foram imersos previamente em água e em saliva.

Hara *et al.* (2006) relataram que a película salivar previne a erosão, mas o nível de proteção depende de vários fatores. Neste estudo *in situ*, os espécimes, tanto de dentina como de esmalte, estiveram expostos à saliva por duas horas ou ao controle antes de serem submetidos a diferentes desafios erosivos, usando como agente erosivo o suco de laranja, em 0

(controle), 10, 20 e 30 minutos de exposição. A porcentagem de perda de dureza da superfície do esmalte foi então avaliada, bem como a perda de mineral e a profundidade da lesão erosiva formada sobre a dentina. Os espécimes com película adquirida formada sobre os mesmos tiveram a erosão reduzida, mas este efeito foi limitado ao grau de severidade das lesões.

Hara *et al.* (2008) fizeram um estudo comparativo entre água destilada, saliva artificial e saliva artificial acrescida de mucina, e seus graus de proteção contra o efeito erosivo sobre o esmalte dentário, comparados com a saliva humana, em um modelo de ciclagem utilizando ácido cítrico 1% (pH 3,75) como agente erosivo e blocos de esmalte e dentina humanos como espécime a avaliar. O esmalte e a dentina dos blocos tiveram uma parte da superfície isolada por uma fita adesiva. Os espécimes foram submersos em ácido cítrico por 5 minutos; após este período foram lavados, secos e imersos em 15 ml de cada solução remineralizante citada por 30 minutos. Após este período foram escovados com dentífrício fluoretado, lavados e secos. Este ciclo foi repetido três vezes ao dia por três dias. A análise para mensurar a lesão erosiva foi feita diariamente utilizando um perfilômetro óptico. Os autores concluíram que a saliva artificial com mucina é uma substituta promissora da saliva artificial neste modelo de ciclagem.

Hannig *et al.* (2009) investigaram a hipótese de que a erosão era mais pronunciada em estudo *in vitro* que *in situ* devido às propriedades protetoras da saliva durante o consumo de bebidas ácidas. Para este estudo foram utilizados espécimes de blocos de esmalte de dente bovino. Como agentes erosivos foram utilizados tanto refrigerantes como suco de laranja. Para o processo *in situ*, os autores fixaram os espécimes com auxílio de um material a base de silicone em diferentes locais da mandíbula e da maxila e permaneceram em contato com a saliva dos voluntários por 120 minutos. Para o estudo *in vitro*, os espécimes foram utilizados sem imersão prévia em saliva, sendo metade expostos às bebidas por 20 segundos sem movimento e a outra metade expostos aos líquidos com movimentos de 600 rpm por 60 segundos. A estrutura da película adquirida formada no estudo *in situ* foi avaliada por microscopia de transmissão eletrônica e a lesão erosiva no esmalte por microdureza. Um total de três voluntários fez parte da pesquisa *in situ*, no qual beberam 200 ml de líquidos em 20 segundos; após este tempo, metade dos espécimes foram removidos imediatamente e a leitura da microdureza foi feita. A outra metade dos espécimes permaneceu na boca por mais 120

minutos e novas leituras foram feitas. Os autores observaram, no estudo *in vitro*, que o desafio erosivo sem movimento causa menos redução da dureza. Em ambos os estudos, os autores concluíram que a perda da dureza é maior para os refrigerantes que para o suco. No estudo *in situ*, a localização dos espécimes não teve relação com a perda de dureza, o mesmo não pode ser afirmado para a ausência da saliva.

Hemingway *et al.* (2010) investigaram, utilizando um modelo *in vitro*, na presença de película salivar adquirida, o efeito de duas proteínas comuns do alimento na erosão do esmalte dental humano. A erosão foi medida por análise perfilométrica e os agentes erosivos foram: ácidos cítrico, málico e láctico com pH, respectivamente, de 2,8, 3,2 e 3,8, e cinco bebidas comercialmente disponíveis. Proteínas, como caseína e albumina, foram adicionadas às soluções ácidas em 0,2% p/v, e o efeito na erosão foi determinado pela comparação com a solução correspondente sem proteína. A caseína reduziu significativamente a erosão. Os efeitos das subfrações individuais da caseína no ácido cítrico em pH 3,2 foram similares àquela da caseína total. A albumina reduziu a erosão em algumas soluções, mas o valor da redução foi menor que o da caseína. Uma redução proporcional na erosão foi vista no ácido cítrico, decrescendo nos ácidos málico ou láctico. Para os autores, o mecanismo de proteção ao esmalte pelas proteínas envolve a absorção das proteínas na película à superfície do esmalte, dando forma a uma película de proteína com a propriedade inibitória da erosão realçada. Os autores concluíram que a caseína e, em menor extensão, a albumina, prometem ser agentes antierosivos quando adicionadas aos líquidos.

2.7. MÉTODOS DE QUANTIFICAÇÃO DA LESÃO EROSIVA

Grenby (1996) fez uma revisão sobre métodos que quantificam a estrutura dentária perdida em trabalhos sobre erosão, com alguns métodos químicos ou físicos, análise digital escâner em microscopia elétrica, entre outros, e conclui que a utilização de qualquer metodologia de análise deve ser baseada na experiência e no conhecimento das técnicas disponíveis.

Ganss *et al.* (2005) compararam a microrradiografia longitudinal, a perfilometria e a análise quantitativa de cálcio e fosfato, métodos quantitativos para mensurar o mineral perdido durante um processo erosivo. Para este estudo, os autores utilizaram blocos de esmalte

dentário humano. Uma área não isolada foi deixada em cada espécime para expor à solução ácida, sendo o restante da estrutura dentária protegido com esmalte de unha. As amostras foram inicialmente mensuradas por microrradiografia e a solução erosiva foi o ácido cítrico (0,05 M; pH 2,3; 10 ml para cada espécie). Nos espécimes onde a erosão foi baixa, a mensuração foi feita utilizando os quatro métodos e houve boa correlação linear, entretanto os valores encontrados nas técnicas de microrradiografia e perfilometria foram 20% menores que na análise de cálcio e fosfato. Com 30 minutos de exposição à solução ácida, microrradiografia não demonstrou correlação com os outros três métodos e os autores concluíram que a microrradiografia deve ser utilizada com critério quando a perda dentária pela erosão for menor que 20 μ m.

Attin (2006) relatam que várias técnicas podem ser utilizadas para mensurar perda da estrutura dentária e dureza de superfície, principalmente em esmalte submetido a desafios erosivos. As mais frequentemente utilizadas são perfilometria, microrradiografia, escâner por microscopia eletrônica, microscopia de absorção atômica, testes de microdureza e teste de permeabilidade a iodo. Entretanto, métodos para análise do mineral dissolvido do tecido dentário são discutidos. O autor conclui que apesar das várias técnicas com especificidade de avaliação física ou química, sua aplicabilidade é complexa e necessita de um vasto entendimento e estudo da aplicabilidade em diferentes análises.

Chuenarrom & Benjakul (2008) fizeram uma análise comparativa entre a perfilometria e a mensuração microscópica para análise de profundidade de lesão em um desafio erosivo. Foram utilizados nesta pesquisa 60 espécimes de blocos de esmalte humano (terceiro molar) divididos em 10 grupos. Cada espécime em seu grupo foram expostas a bebidas carbonatadas de pH 2,8 ou suco de laranja com pH 3,7 por 15, 30, 60, 120 e 180 minutos. A profundidade da lesão erosiva foi mensurada por meio destas duas técnicas. Os autores concluíram que há baixa correlação entre os métodos, entretanto a mensuração microscópica é simples, rápida, mas não deve ser indicada quando a lesão é pouco profunda ou inicial.

Attin *et al.* (2009) avaliaram o quanto o ressecamento da dentina e do esmalte influencia a análise perfilométrica. Para isto, utilizaram oito espécimes, sendo 4 blocos de esmalte e 4 blocos de dentina e imergiram em HCl (pH 2,6) por 2 minutos. A análise

perfilométrica foi feita em três condições: na primeira, os blocos ficavam armazenados na água; na segunda, os blocos ficavam em temperatura de 21°C em ambiente com umidade de 35%; na terceira os espécimes ficaram totalmente secos e em seguida molhados. Os autores fizeram as análises perfilométricas em vários intervalos de tempo que variaram de 181 minutos (condição 1 e 2) e 72 horas (condição 3) e concluíram que apenas os espécimes de dentina foram afetados com a condição da umidade tendo a leitura facilitada. Portanto, foi sugerida que a mensuração de dentina pela perfilometria seja feita em condições de umidade.

Stenhagen *et al.* (2010) compararam a precisão e a acurácia de cinco métodos diferentes utilizados para mensurar perda de substância ou perda de dureza na superfície do esmalte depois de repetidas exposições ácidas. Os métodos foram: WLI (Interferometria de luz branca), SP (caneta perfilométrica), OP (perfilômetro óptico) e AAS (espectroscopia de absorção atômica). Doze espécimes de blocos de esmalte foram retirados de molares humanos. Todos os espécimes foram planificados e polidos. Sobre cada bloco foi criada uma janela para exposição ao ácido sob a técnica a ser analisada, sendo o restante protegido com esmalte. Foram feitos dois desafios erosivos com 15 ml 0,01 M HCl, pH 2,2, por 6 minutos. As cinco análises foram feitas antes e depois de cada desafio. O cálcio foi analisado por espectrofotometria de absorção atômica e o resultado foi convertido em profundidade de lesão. As leituras da análise por interferometria de luz branca foram feitas sobre 1/3 do amálgama e 2/3 do esmalte, da subtração das leituras por meio de um programa de computador foi calculada a profundidade no amálgama e no esmalte separadamente. A dureza de superfície foi analisada em uma área dos espécimes que não interferisse nas outras análises. A perfilometria, que também é uma análise topográfica de superfície, foi feita antes e depois do tratamento erosivo e a área escolhida foi próxima e incluindo a região com amálgama. Os autores relatam ainda a necessidade da calibração tanto dos aparelhos como do operador para diminuir o erro de resultados e concluem que a análise química por espectrofotometria foi precisa, mas a acurácia do método foi baixa quando convertida a perda de Ca para profundidade. A WLI foi superior a SP e OP em ambos, precisão e acurácia.

2.8. FRUTAS BRASILEIRAS DO NORTE E NORDESTE

Franco & Shibamoto (2000) pesquisaram nos frutos umbu-cajá (*Spondias citherea*), camu-camu (*Myrciaria dubia*), araçá-boi (*Eugenia stipitata*) e cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*), frutas tropicais brasileiras, a caracterização de componentes voláteis que permitissem um delineamento onde a qualidade do aroma e sabor fossem mantidos no produto final. O fruto que mais apresentou componentes identificados foi o araçá-boi (30 componentes), seguido pelos frutos umbu-cajá e o camu-camu (23 componentes) e o cupuaçu (21 componentes), entretanto este último exibiu um padrão diferente de componentes voláteis.

Sobral *et al.* (2000) avaliaram o pH de algumas frutas cítricas e relatam que quando consumidas mais que duas vezes ao dia apresentam um risco 37 vezes maior de desenvolverem lesões por erosão. Foram colocados aproximadamente 50 ml de cada suco em um frasco tipo Becker estéril e os valores de pH foram medidos utilizando-se um pH-metro. Algumas bebidas industrializadas também foram analisadas. Os autores consideram que o valor do pH da dieta líquida é um importante fator a ser considerado na capacidade erosiva das bebidas. Os sucos de frutas e outras bebidas analisadas neste estudo revelaram valores abaixo do pH crítico para desmineralização dental (5,5), sendo portanto considerados potencialmente erosivos. A diluição destes sucos e a espera de 30 minutos para consumo, após o preparo ou abertura das embalagens, não produziu grandes alterações nos valores de pH das bebidas analisadas.

Ceva-Antunes *et al.* (2003) avaliaram compostos voláteis do taperebá e do cajá de diferentes regiões geográficas. Esta análise foi feita usando a fase sólida da micro extração, destilação e extração e 48 compostos foram identificados do taperebá e 47 do cajá. Alguns componentes voláteis foram encontrados nestes frutos.

Dib Taxi *et al.* (2003) relataram que o camu-camu, assim como outros frutos da região amazônica, necessitam de pesquisa sobre métodos de utilização, pois são sabidamente importantes quanto aos seus constituintes, como a vitamina C. Por esta razão, neste trabalho os autores desenvolveram uma técnica para o encapsulamento do suco de camu-camu. O suco foi seco com um mini spray, com ar em temperatura entre 100-160°C e a concentração do material variando entre 5-35%. Os autores concluíram que a retenção da vitamina C foi estabelecida com 15% do material e a temperatura ideal foi de 150°C.

Silva *et al.* (2003) consideram que o cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*) é uma fruta tropical amazônica com um grande potencial econômico. Os autores pasteurizaram a polpa desta fruta a fim de avaliar sua preservação em temperatura ambiente. Os autores concluíram que neste processo pode haver variação de cor, entretanto de nada afeta o sabor e aroma da fruta.

Azevedo-Meleiro & Rodriguez-Amaya (2004) relataram que o Brasil é rico em frutos com composições variáveis de carotenóides. Neste estudo, eles identificaram carotenóides nos frutos da acerola, camu-camu, pequi e pitanga. E concluíram que a luteína é o carotenóide mais encontrado no camu-camu seguido pelo β caroteno e pela zeaxantina.

Inoue *et al.* (2008) avaliaram a efetividade do camu-camu como antioxidante em humanos devido ao nível elevado de vitamina C neste fruto. Para este estudo foram selecionados 20 voluntários do sexo masculino, fumantes e considerados por apresentarem um alto estágio de estresse oxidativo. Metade dos voluntários foram orientados a tomar 70 ml de suco 100% puro de camu-camu, correspondendo a 1050 mg de vitamina C por 7 dias. Os outros voluntários usaram a mesma quantidade de vitamina C, porém de tablete também por 7 dias. Após este período, métodos de mensuração deste estresse foram utilizados e concluíram que os voluntários que utilizaram o suco de camu-camu tiveram um decréscimo deste estresse oxidativo mais significativo que os que utilizaram a vitamina C em tablete. Assim sendo, os autores consideram que o suco de camu-camu pode ter um potencial antioxidante e antiinflamatório elevado.

Akachi *et al.* (2010) avaliaram a capacidade hepatoprotetora de algumas frutas consideradas com efeitos supressivos sobre a D- galactosamina. Entre estas frutas estava o suco de camu-camu que tem um potencial efeito supressivo. A intenção dos pesquisadores era isolar o componente ativo deste suco. Neste estudo, os autores conseguiram isolar o 1-metilmalato, que suprime a injúria causada pela d-galactosamina, mas admitem a necessidade de outras pesquisas para validar esta informação.

3. PROPOSIÇÃO

Considerando a ausência de dados sobre as propriedades dos sucos preparados a partir de frutas tropicais brasileiras e sua relação com a erosão dental, o objetivo do presente estudo foi analisar o pH, a acidez titulável e o conteúdo de cálcio dos sucos das frutas araçá-boi, camu camu, cupuaçu, taperebá e umbu para, em modelo *in vitro*, avaliar o potencial erosivo dos sucos, e em modelo *in vivo*, avaliar a capacidade tamponante da saliva sobre os mesmos.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

Inicialmente, o pH inicial, a acidez titulável (capacidade tampão) e o conteúdo e cálcio (Ca) dos sucos foram analisados. Para o experimento *in vitro*, incisivos bovinos hígidos foram cortados e polidos, obtendo-se blocos de esmalte nas medidas de 4 x 4 mm. Foi mensurada a dureza inicial de superfície de todos os blocos dentais e em seguida foram analisados quanto à perfilometria. Trinta e cinco blocos de esmalte bovino, selecionados quanto à dureza e perfilometria, foram então aleatoriamente distribuídos em 7 grupos de tratamentos (T):

T₁ - água destilada deionizada (controle negativo);

T₂ - ácido cítrico 1% pH 3,75 (controle positivo);

T₃ - suco de araçá-boi (*Eugenia stipitata*);

T₄ - suco de camu camu (*Miracyaria dubia*);

T₅ - suco de cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*);

T₆ - suco de taperebá (*Spondia mombim*);

T₇ - suco de umbu (*Spondia tuberosa*).

No modelo de ciclagem erosiva do experimento *in vitro*, os blocos dentais foram imersos em 10 ml da respectiva solução de tratamento por 2 minutos, quatro vezes ao dia, durante cinco dias. Nos intervalos entre os tratamentos, os blocos dentais ficaram imersos em solução remineralizadora a 37°C, a qual foi trocada 2 vezes ao dia. Ao final de cada dia de ciclagem, após imersão na solução remineralizadora por 2 horas depois do último tratamento do dia, a dureza de superfície dos blocos foi novamente mensurada para cálculo da porcentagem de perda de dureza de superfície (%PDS). Ao final do experimento, os blocos dentais foram novamente analisados quanto à perfilometria.

No experimento *in vivo*, a capacidade de tamponamento da saliva foi avaliada em doze voluntários adultos expostos aos diferentes tratamentos.

4.2. PREPARO DOS SUCOS

As frutas de araçá-boi (*Eugenia stipitata*), camu-camu (*Myrciaria dubia*), cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*), umbu (*Spondia mombim*) e taperebá (*Spondia tuberosa*) (Figura 1) foram doadas pelo Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia – INPA, na forma de polpa congelada. Os frutos foram provenientes da fazenda Yurican, localizada no km 100 da rodovia AM 010, no Município de Rio Preto da Eva, Amazonas. Os frutos foram colhidos maduros, selecionados quanto à presença de injúrias mecânicas e sanidade. Em seguida foram lavados em água corrente e secos a temperatura ambiente. Em seguida foram despulpados em despulpadeira de aço inox, malha 1,5 mm, marca Itametal. As polpas congeladas foram utilizadas para o preparo dos sucos na proporção de 25 g de polpa para cada 100 mL de água destilada deionizada (H₂O_{dd}). Os sucos foram homogeneizados em liquidificador e coados em peneira. O suco obtido foi mantido em temperatura ambiente e utilizado no mesmo dia.

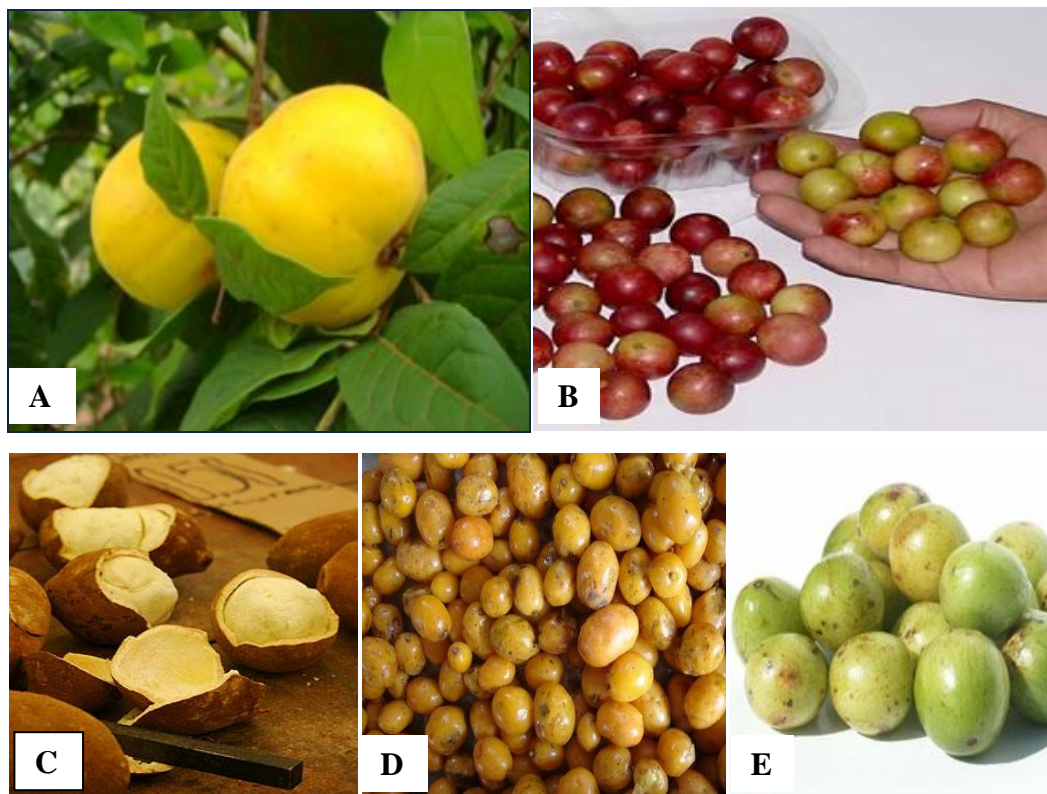


Figura 1 - Frutas tropicais: **A** - araçá-boi; **B** - camu-camu; **C** - cupuaçu; **D** - taperebá; **E** - umbu.

4.3. ANÁLISE DE CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS DOS SUCOS

4.3.1. DETERMINAÇÃO DO pH INICIAL DOS SUCOS

Para determinar o pH inicial de cada um dos sucos, foi utilizado um eletrodo de pH calibrado com padrões tampões de pH 4,0 e 7,0 e conectado a um peagômetro (Model SA 720, PROCYON). Um volume de 100 mL de suco recém-preparado foi colocado em um béquer e, sob agitação e à temperatura ambiente, teve seu pH inicial determinado (Edwards *et al.*, 1999). Foram realizadas seis repetições de cada suco proveniente de distintos preparos.

4.3.2. DETERMINAÇÃO DA ACIDEZ TITULÁVEL DOS SUCOS

Imediatamente após verificação do pH inicial, a acidez titulável de cada suco foi avaliada, adicionando-se incrementos de 0,5 mL de hidróxido de sódio (NaOH) 1 M a 100 mL dos sucos até atingir o pH 7 (Touyz & Silove, 1993; Ehlen *et al.*, 2008). Os volumes totais de NaOH adicionado foram anotados para comparação da acidez titulável (Edwards *et al.*, 1999). Foram realizadas seis avaliações de cada suco, o qual foi proveniente de distintos preparos.

4.3.3. ANÁLISE DO CONTEÚDO DE CÁLCIO DOS SUCOS

A dosagem de cálcio nos sucos foi realizada por espectrofotometria de absorção atômica em presença de lantânio 0,1%, para diminuir a interferência do fósforo. O aparelho utilizado foi o espectrofotômetro VARIAN AA-50, sendo as leituras realizadas a 422,7 nm. O aparelho foi calibrado com soluções padrão contendo de 0,2 a 2,0 ppm de cálcio. Foram realizadas seis avaliações de cada suco, o qual foi proveniente de distintos preparos.

4.4. ESTUDO IN VITRO DE CICLAGEM EROSIVA DE pH

4.4.1. OBTENÇÃO DOS BLOCOS DE ESMALTE DENTAL BOVINO

Incisivos bovinos hígidos foram armazenados em formaldeído 2% pH 7,0 por um período mínimo de 30 dias para desinfecção antes de qualquer procedimento experimental (White, 1987). Em seguida, os dentes foram examinados visualmente com auxílio de lupa (aumento de 10 X) para exclusão dos que apresentassem fraturas, trincas ou hipoplasias no esmalte. Os dentes foram seccionados na porção cervical, separando coroa e raiz, em uma cortadeira elétrica, utilizando um disco diamantado dupla face (Figura 2). As coroas foram posteriormente seccionadas, de forma que apenas 1 bloco dental foi cortado de cada dente da sua região mais plana e os cortes foram feitos sob refrigeração com água destilada e deionizada para evitar trincas no esmalte, obtendo-se blocos de esmalte com dimensões de 4 x 4 mm (Figura 3).



Figura 2: Máquina de corte, modelo ISOMET, com disco diamantado.



Figura 3 - Bloco de esmalte dental com 16 mm².

Em seguida, a altura dos blocos de esmalte foi reduzida para 2 mm através da planificação da porção dentinária. Para tal, a maior área de esmalte plano foi fixada com cera pegajosa contra a superfície de um disco de resina acrílica pré-fabricado (3 cm x 8 mm) (Figura 4), sendo a dentina planificada utilizando-se lixa de granulação 600 e politriz, verificando-se a altura do bloco com um paquímetro digital. A planificação e o polimento da superfície do esmalte foram feitos em politriz, com lixa de granulação de 400, 600 e 1200, respectivamente, seguido por disco de feltro embebido com solução diamantada. Nesta etapa de planificação e polimento da superfície de esmalte, 5 blocos dentais foram fixados em uma mesma peça de acrílico com o objetivo de obter blocos mais planos (Figura 5).

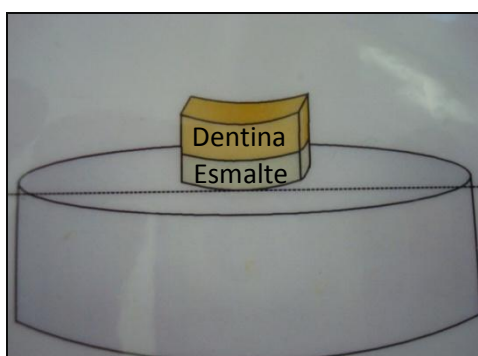


Figura 4 - Esquema do posicionamento do bloco para planificação da dentina.



Figura 5 - Blocos de esmalte dental fixados em cilindro de acrílico.

Entre uma lixa e outra, os blocos dentais foram lavados em ultra-som durante 5 min, utilizando água destilada e deionizada, e ao final com solução detergente, com o objetivo de remover as partículas do feltro e solução diamantada. Os blocos dentais foram então armazenados em recipientes plásticos fechados, cobertos com papel absorvente umedecido com H₂O e conservados em geladeira a 4°C.

4.4.2. SELEÇÃO DOS BLOCOS DENTAIS

Para seleção dos blocos dentais, a dureza inicial de superfície foi mensurada com três endentações realizadas próximas à região central de cada bloco, a 100 µm de distância entre as mesmas, utilizando o microdurômetro Future Tech modelo FM-7 acoplado a um software FM-ARS e penetrador tipo Knoop, com carga de 50 g por 5 seg (Figuras 6 e 7). Os critérios de seleção foram baseados na média e desvio padrão da dureza de superfície de cada bloco dental. Foram excluídos do experimento blocos dentais que apresentaram desvio padrão maior do que 10% de sua média de dureza individual (variabilidade intra blocos) e aqueles que apresentaram sua média individual de dureza maior ou menor do que 10% da média de dureza calculada para todos os blocos inicialmente obtidos (variabilidade entre blocos). Os blocos dentais selecionados apresentaram dureza média de $324,5 \pm 41,5 \text{ kg/mm}^2$.

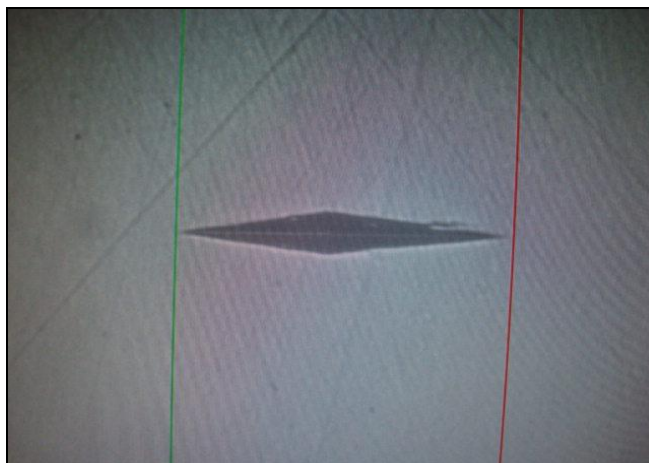


Figura 6 - Endentação no bloco de esmalte dental para análise de dureza.



Figura 7 - Microdurômetro Future Tech modelo FM-7.

Os blocos dentais selecionados pela dureza de superfície foram então analisados quanto à perfilometria. Os blocos dentais foram posicionados no perfilômetro ótico (Proscan 2000; Scantron, Venture Way, Taunton, UK), tendo a superfície experimental paralela ao plano horizontal (Figuras 8 e 9). Uma área de $3 \times 3 \text{ mm}^2$ foi escaneada e as imagens foram analisadas usando um programa de computador (Proscan 2000; Scantron), que calculou a altura média da área experimental. Foram incluídos os blocos com curvatura na faixa de $-0,50$ a $+0,50 \text{ }\mu\text{m}$. A curvatura média foi de $0,09 \pm 0,26 \text{ }\mu\text{m}$.

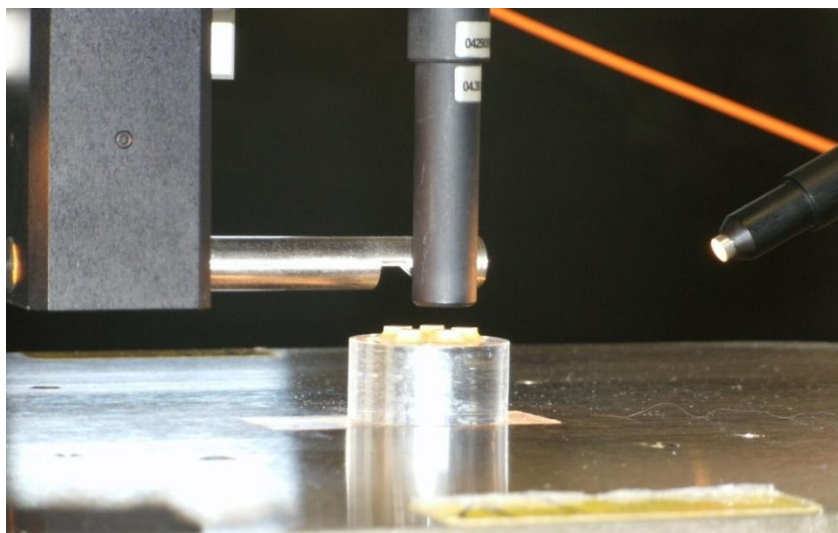


Figura 8 – Avaliação perfilométrica da superfície dos blocos.

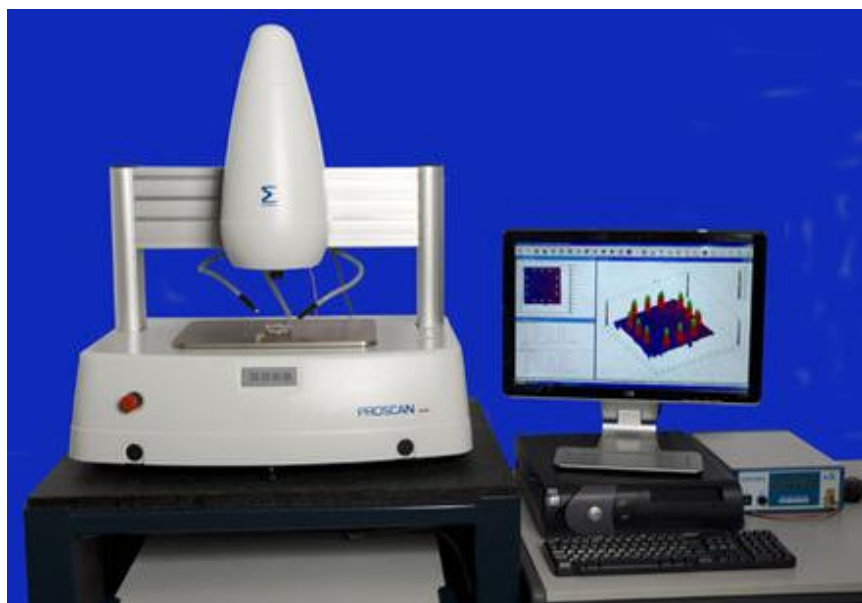


Figura 9 - Perfilômetro ótico, modelo Proscan 2000.

4.4.3. PREPARO DOS BLOCOS SELECIONADOS PARA CICLAGEM

A superfície de esmalte dos blocos dentais teve duas áreas laterais isoladas por fita plástica adesiva (Adhesive Unplasticised Polyvinyl Chloride – UPVC), deixando uma área central de 4 x 1 mm para ser exposta aos tratamentos (Hara *et al.*, 2008) (Figura 10).

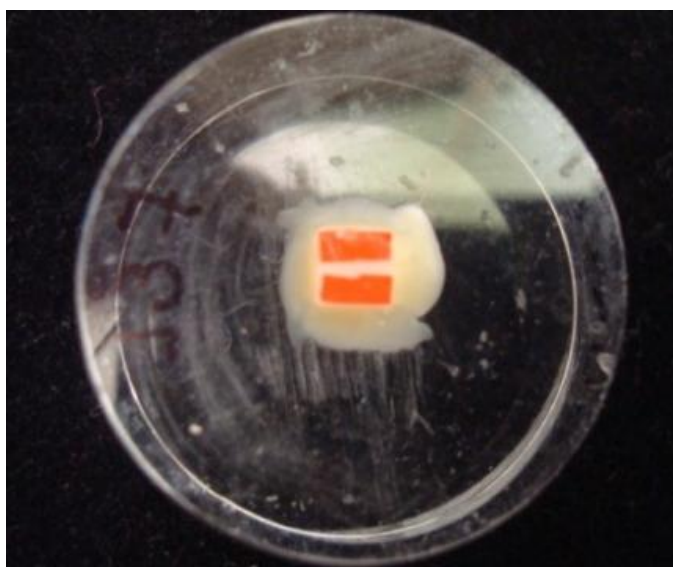


Figura 10 - Bloco de esmalte dental com área central exposta.

4.4.4. CICLAGEM EROSIVA

No modelo de ciclagem erosiva, foi utilizada saliva artificial ou solução remineralizadora, contendo 1,5 mM de Ca; 0,9 mM de PO₄ e 150 mM de KCl em solução tampão tris 20 mM, pH 7,0 (Serra & Cury, 1992). Os blocos dentais foram imersos na saliva artificial a 37°C por 30 minutos antes do primeiro desafio erosivo no primeiro dia de experimento, por 2 horas após cada tratamento e ao final do quarto tratamento do dia, permanecendo por toda a noite até o próximo dia de ciclagem. O volume de saliva artificial utilizado correspondeu a 2,5 mL/mm² de área de esmalte dental exposta. Para a ciclagem erosiva, foi desenvolvido um dispositivo para permitir a imersão e retirada dos blocos ao mesmo tempo das soluções de tratamento e saliva artificial (Figura 11).

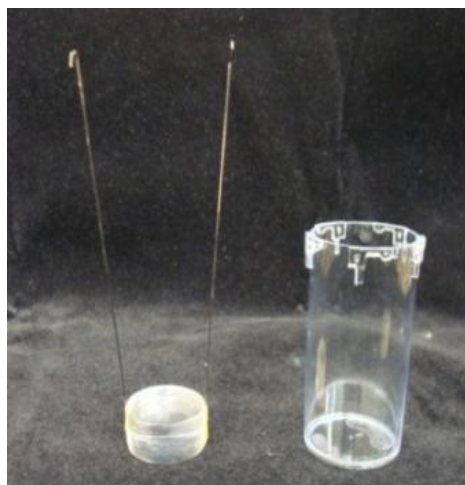


Figura 11 - Dispositivo para ciclagem erosiva dos blocos de esmalte dental.

No primeiro dia de experimento, antes do primeiro desafio erosivo, todos os blocos dentais foram imersos em saliva artificial por 30 min. Durante os 5 dias de experimento, os blocos de esmalte foram, individualmente, imersos nos respectivos grupos de tratamento (2,5 mL/mm² de área de esmalte dental exposta) por 2 minutos, sem agitação, à temperatura ambiente, 4 vezes ao dia, às 9:00, 11:00, 13:00 e 15:00 h. Os blocos dentais permaneceram imersos na saliva artificial nos intervalos de duas horas entre os quatro desafios erosivos de cada dia da ciclagem. A saliva artificial foi trocada 2 vezes ao dia, isto é, após o

segundo e quarto tratamento. Os sucos utilizados em cada tratamento eram frescos, isto é, não haviam sido utilizados antes. Antes da imersão dos espécimes nas soluções de tratamento e saliva artificial, os mesmos eram lavados com H₂Odd e cuidadosamente secos com papel absorvente.

4.4.5. ANÁLISE DE DUREZA DE SUPERFÍCIE E PERFILOMETRIA FINAL

A determinação da dureza de superfície pós-tratamento foi realizada nos 5 dias do experimento *in vitro*, 2 horas após o último tratamento diário. Foram realizadas 3 edentações a 100 µm de distância das realizadas anteriormente na região central do bloco dental. A médias destes valores foi usada para calcular a porcentagem de perda de dureza de superfície (%PDS), utilizando a seguinte fórmula:

$$\% \text{ PDS} = \frac{\text{Dureza inicial} - \text{Dureza pós-experimento}}{\text{Dureza inicial}} \times 100$$

Ao final dos 5 dias de ciclagem erosiva, a perda de superfície também foi avaliada pela análise perfilométrica. Para esta análise, o próprio bloco dental serviu como seu controle, pois as fitas adesivas impediram que ocorresse ataque erosivo na porção do bloco protegida.

4.5. ESTUDO “IN VIVO” DA CAPACIDADE TAMPONANTE SALIVAR

4.5.1. SELEÇÃO DOS VOLUNTÁRIOS

Este estudo *in vivo* foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da FOP-UNICAMP, protocolo número 107/2010 (Anexo 9.1). Foram selecionados 12 voluntários saudáveis, de ambos os gêneros, com idades entre 21 a 45 anos. Os voluntários incluídos apresentaram condição de saúde bucal e sistêmica favorável e fluxo salivar estimulado normal (1,0 mL/min) (Ericsson & Hardwick, 1978). Foram excluídos os voluntários que

apresentaram lesão de cárie ativa, doença periodontal, doenças graves, fumantes, mulheres grávidas ou amamentando e que usavam medicamentos que afetavam o fluxo salivar.

4.5.2. DESCRIÇÃO DO ESTUDO *IN VIVO*

O estudo *in vivo* (Tenuta et al., 2009) teve duração de sete dias, sendo realizado um tratamento por dia por voluntário. Anteriormente à fase experimental, os voluntários coletaram saliva não-estimulada e estimulada, para determinação do fluxo salivar. Os voluntários foram submetidos aos seguintes tratamentos: H₂O dd (controle negativo), ácido cítrico 1% pH 3,75 (controle positivo), sucos de araçá-boi, camu-camu, cupuaçu, taperebá e umbu (Figura 12). Os voluntários foram aleatorizados nestes tratamentos a fim de determinar qual seria o tratamento do primeiro dia.

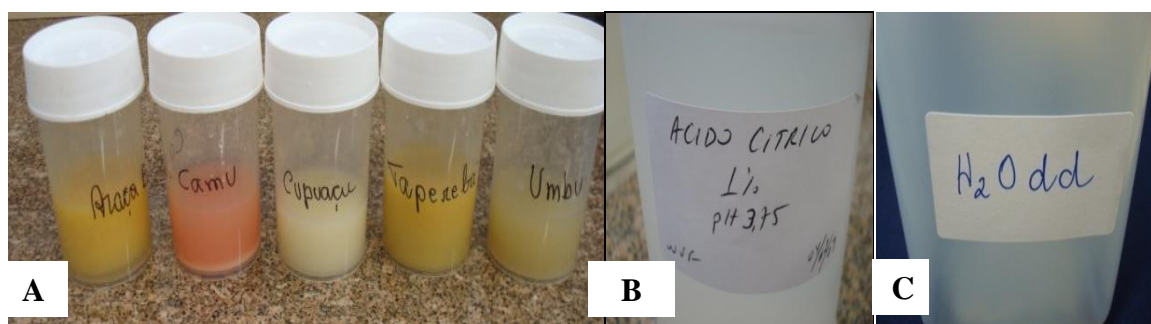


Figura 12 - Grupos de tratamentos do estudo *in vivo*. **A**: suco de frutas; **B**: controle positivo; **C**: controle negativo.

Copos descartáveis contendo 15 ml de cada tratamento foram pré-pesados (Figura 13). Primeiramente, foi coletada saliva não-estimulada dos voluntários em um tubo de microcentrífuga devidamente identificado para determinação do pH salivar inicial (baseline). Na sequência, foi solicitado aos voluntários para que deglutissem toda saliva, e colocassem a solução de tratamento na boca, mantendo-a por 10 segundos, sem bochechar e sem deglutir. Após, os voluntários expectoravam todo o líquido presente na boca (solução de tratamento + saliva) de volta ao copo. Então, o pH desta mistura de saliva e solução de tratamento foi

determinado. Nos tempos de 15, 30, 45, 60 e 120 segundos após o voluntário ter sido exposto à solução de tratamento, novas coletas de saliva não estimulada foram realizadas (Figura 14).



Figura 13 - Pesagem do copo com solução de tratamento.

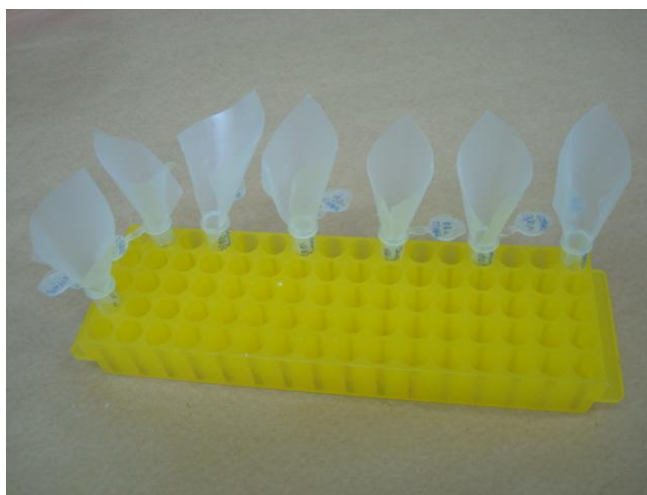


Figura 14 - Tubos preparados para coleta da saliva.

O pH de todas estas amostras de saliva foi determinado em um eletrodo de pH acoplado a um peagômetro eletrônico de bancada (Modelo SA 720, PROCYON) (Figuras 15 e 16), previamente calibrados com padrões de pH 4 e 7.



Figura 15 - Determinação do pH da saliva.

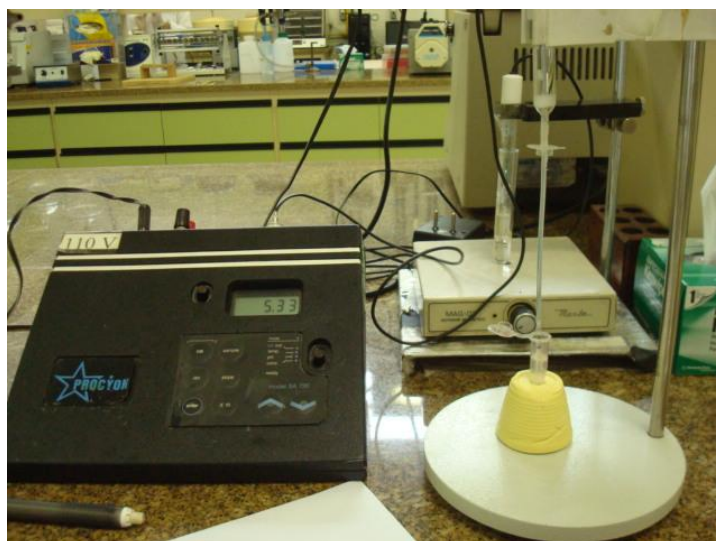


Figura 16 - Peagômetro e eletrodo de pH modelo SA 720, PROCYON.

Os dados de pH em cada tempo de coleta da saliva foram utilizados para o cálculo da área sob a curva (ASC) de pH em função do tempo.

4.6. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Todos os dados foram analisados por análise de variância seguida de teste de Tukey. No estudo *in vivo*, os voluntários foram considerados como blocos estatísticos. Os testes de hipóteses e as estimativas por intervalo (intervalos de confiança) foram precedidos

por testes de homogeneidade de variâncias (Cochran) e de normalidade (Kolmogorov-Smirnov). A normalidade da distribuição dos erros e o grau de variação não constante foram checados para cada variável de resposta usando o STATISTICA (Data Analysis Software System – Version 10; 2011; StatSoft, Inc – 2300 East 14th St. Tulsa, OK 74104, USA). Quando necessário, os dados foram transformados como sugerido pelo sistema estatístico utilizado (Box *et al.*, 2005). Para a concentração de cálcio, a transformação utilizada foi seno e para perda de superfície (perfilometria) raiz cúbica. O limite de significância foi de 5%. O detalhamento da análise estatística realizada encontra-se no Anexo 9.2.

5. RESULTADOS

5.1. CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS DOS SUCOS

A análise do pH inicial dos sucos de araçá-boi, camu-camu, cupuaçu, taberebá e umbu revelou que todos são ácidos, com pH variando entre 2,5 e 3,5 (Figura 17; Tabela 1). O suco de cupuaçu apresentou o maior pH, diferindo significativamente de todos os outros sucos ($p < 0,05$). Os valores de pH dos sucos de araçá-boi e camu-camu não diferiram entre si ($p > 0,05$), sendo que o pH deste último também não diferiu do pH do suco de taperebá ($p > 0,05$). O menor pH foi apresentado pelo suco de umbu, o qual diferiu significativamente de todos os outros sucos ($p < 0,05$).

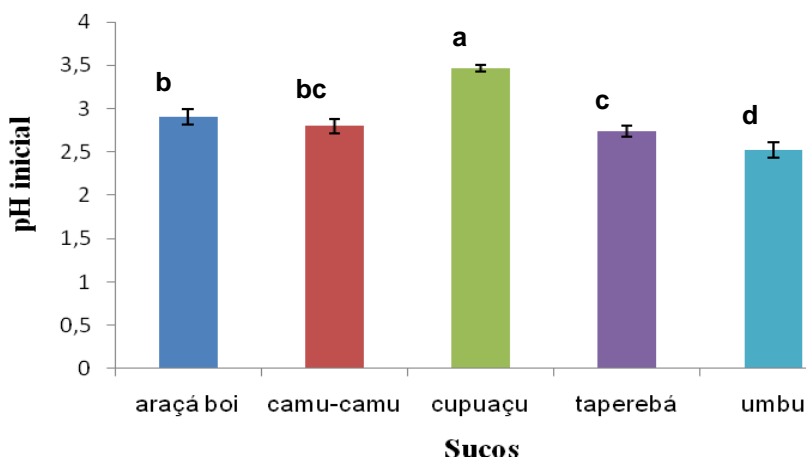


Figura 17 - pH inicial dos sucos. Sucos com letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p > 0,05$). Barras verticais indicam o desvio padrão ($n=6$).

Em relação à acidez titulável dos sucos analisados, a quantidade de mmoles de NaOH necessária para que cada um deles atingisse a neutralidade (pH 7,0) não apresentou diferença significativa entre os sucos de araçá-boi, camu-camu e umbu ($p > 0,05$). Entretanto, para os sucos de cupuaçu e taperebá, a quantidade de NaOH foi diferente dos demais sucos e também entre si ($p < 0,05$) (Figura 18; Tabela 1).

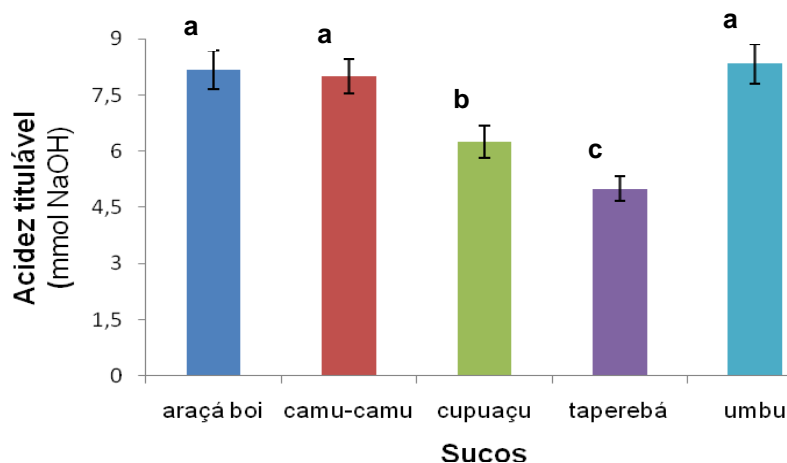


Figura 18 - Acidez titulável dos sucos. Sucos com letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). Barras verticais indicam o desvio padrão ($n=6$).

Os sucos com as maiores concentrações de cálcio foram taperebá e umbu (Figura 19; Tabela 1), os quais diferiram entre si e de todos os outros sucos ($p < 0,05$). As concentrações de cálcio nos sucos de araçá-boi e camu-camu não diferiram significativamente entre si ($p > 0,05$). A menor concentração de cálcio foi encontrada no suco de cupuaçu, o qual diferiu estatisticamente de todos os outros sucos ($p < 0,05$).

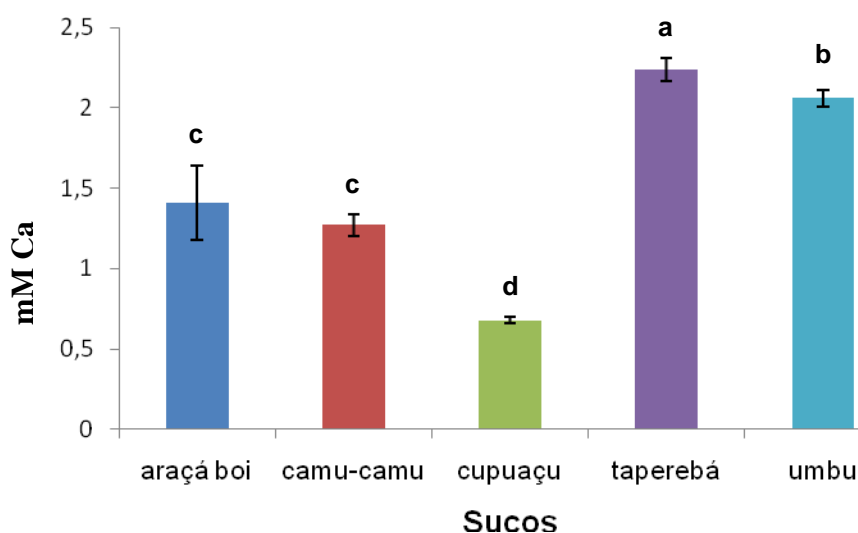


Figura 19 - Concentração de cálcio nos sucos. Sucos com letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). Barras verticais indicam o desvio padrão ($n=6$).

Tabela 1 – Características químicas dos sucos de frutas (média ± desvio padrão; n=6).

Tratamentos	pH inicial	Acidez Titulável (mmol NaOH)	Ca (mM)
suco de araçá-boi	2,90 ± 0,09	8,17 ± 0,52	1,41 ± 0,23
suco de camu-camu	2,80 ± 0,08	8,00 ± 0,45	1,27 ± 0,07
suco de cupuaçu	3,47 ± 0,04	6,25 ± 0,42	0,68 ± 0,02
suco de taperebá	2,73 ± 0,06	5,00 ± 0,32	2,24 ± 0,07
suco de umbu	2,52 ± 0,09	8,33 ± 0,52	2,06 ± 0,05

5.2. EXPERIMENTO IN VITRO

5.2.1. DUREZA DE SUPERFÍCIE DO ESMALTE DENTAL

Os resultados de dureza de superfície dos blocos dentais ao final do primeiro, segundo e terceiro dias de ciclagem erosiva estão apresentados na Tabela 1. Quanto à dureza inicial dos blocos dentais, não foi observada diferença significativa entre os grupos de tratamento ($p>0,05$).

Tabela 1 - Dureza de superfície (Kg/mm^2) inicial do esmalte dos blocos dentais e %PDS após ciclagem erosiva com sucos de frutas (média ± desvio padrão; n=5).

Tratamentos	Dureza de superfície inicial*	%PDS		
		24 h	48 h	72 h
água dd	330,6 ± 46,9	2,4 ± 4,9 ^A	6,7 ± 10,0 ^A	3,3 ± 6,0 ^A
ácido cítrico	323,3 ± 29,4	38,5 ± 3,7 ^B	43,1 ± 4,3 ^B	50,7 ± 6,7 ^B
suco de araçá-boi	333,2 ± 45,8	50,5 ± 10,8 ^{BC}	60,3 ± 13,3 ^{BCD}	77,9 ± 4,2 ^D
suco de camu-camu	318,8 ± 46,3	49,5 ± 8,6 ^{BC}	58,2 ± 5,1 ^{BCD}	65,3 ± 3,9 ^C
suco de cupuaçu	328,7 ± 33,1	40,0 ± 21,9 ^{BC}	47,9 ± 11,2 ^{BC}	53,8 ± 7,0 ^B
suco de taperebá	344,1 ± 37,1	60,8 ± 21,2 ^{BC}	68,0 ± 8,1 ^D	74,8 ± 4,8 ^{CD}
suco de umbu	292,9 ± 54,2	63,4 ± 5,8 ^C	66,1 ± 12,7 ^{CD}	77,3 ± 3,4 ^D

*Não há diferença na dureza de superfície inicial entre os tratamentos ($p>0,05$).

Tratamentos seguidos por letras distintas nas colunas diferem entre si pelo teste de Tukey ($p<0,05$).

%PDS – porcentagem de perda de dureza de superfície.

Ao final do primeiro dia de ciclagem (24 h), a %PDS do esmalte dental de todos os tratamentos foi significativamente maior que a do controle negativo (H_2O) ($p < 0,05$), porém não diferiram do controle positivo (ácido cítrico), nem entre si ($p > 0,05$), exceto para o suco de umbu que diferiu do controle positivo ($p < 0,05$). Ao final do segundo dia de ciclagem (48 h), novamente a %PDS do esmalte dental de todos os tratamentos foi significativamente maior que a do controle negativo ($p < 0,05$). Os blocos dentais tratados com o suco de taperebá apresentaram os maiores valores de %PDS, porém não houve diferença significativa em relação aos blocos tratados com o suco de araçá-boi, camu-camu e umbu. Os sucos de araçá-boi, camu-camu e cupuaçu também apresentaram %PDS equivalentes e não diferiram do controle positivo ($p > 0,05$). Ao final do terceiro dia de ciclagem (72 h), a %PDS do esmalte dental de todos os sucos de frutas foi significativamente maior que a do controle negativo e positivo ($p < 0,05$), exceto para o suco de cupuaçu que não diferiu do ácido cítrico ($p > 0,05$). Os blocos dentais tratados com o suco de araçá-boi e umbu apresentaram os maiores valores de %PDS, porém não houve diferença significativa em relação aos blocos tratados com o suco de taperebá ($p > 0,05$).

5.2.2 PERFILOMETRIA

A análise perfilométrica inicial e final da superfície do esmalte dos blocos de dentes bovinos submetidos a ciclagens erosivas com os sucos de frutas e soluções controles, assim como a diferença entre estes dados (perda de superfície), estão apresentados na Tabela 2. O suco de cupuaçu levou a menor perda de superfície entre os sucos de frutas estudados ($p < 0,05$) e não diferiu significativamente dos controles negativo e positivo ($p > 0,05$). O suco de umbu provocou a maior perda de superfície, e diferiu significativamente do controle negativo (água deionizada), do controle positivo (ácido cítrico) e de suco de cupuaçu ($p < 0,05$), mas sem diferença significativa dos sucos de araçá-boi, camu-camu e taperebá ($p > 0,05$), os quais também não diferiram entre si ($p > 0,05$).

Tabela 2 - Análise perfilométrica (μm) inicial e final e a perda da superfície do esmalte dos blocos dentais submetidos a ciclagens erosivas com sucos de frutas (média. \pm desvio padrão; n=5).

Tratamentos	Inicial	Final	Perda da superfície
água dd	0,11 \pm 0,24	-0,11 \pm 0,04	0,22 \pm 0,22 ^A
ácido cítrico	0,06 \pm 0,29	-0,48 \pm 0,35	0,54 \pm 0,36 ^{AB}
suco de araçá-boi	0,12 \pm 0,24	-2,22 \pm 0,74	2,34 \pm 0,96 ^{BC}
suco de camu-camu	0,12 \pm 0,24	-1,38 \pm 0,80	1,50 \pm 0,88 ^{BC}
suco de cupuaçu	0,11 \pm 0,27	-0,41 \pm 0,25	0,52 \pm 0,28 ^{AB}
suco de taperebá	0,04 \pm 0,32	-2,10 \pm 1,27	2,13 \pm 1,16 ^{BC}
suco de umbu	0,06 \pm 0,33	-3,13 \pm 0,88	3,19 \pm 1,13 ^C

Tratamentos seguidos por letras distintas nas colunas diferem entre si pelo teste de Tukey (p<0,05).

5.3. pH SALIVAR E ÁREA SOB A CURVA DE pH

O pH inicial da saliva (baseline) não estimulada dos voluntários não diferiu entre os diferentes tratamentos (Tabela 3). Entretanto, após a exposição aos sucos das frutas e solução controle positivo (ácido cítrico), o pH da saliva dos voluntários diminuiu. O pH da saliva dos voluntários permaneceu baixo até cerca de 30 segundos após a exposição aos sucos de frutas e ácido cítrico (Tabela 3). Quanto à área sob a curva (ASC) de pH da saliva versus o tempo da coleta, a média apresentada pelo controle negativo (água dd), foi significativamente maior que a de todos os outros tratamentos ($p < 0,05$). A ASC apresentada pelo controle positivo, ácido cítrico, não diferiu daquela obtida para todos os sucos de frutas estudados ($p > 0,05$), os quais também não diferiram entre si ($p > 0,05$).

Tabela 3 - pH salivar dos voluntários antes e em diferentes períodos de tempo após a exposição aos sucos de frutas e soluções controle e área sob a curva de pH versus tempo de coleta das amostras de saliva (ASC; média±dp; n=12).

Tempo (seg)	Tratamentos						
	H ₂ O dd	ác. cítrico	araçá-boi	camu-camu	cupuaçu	taperebá	umbu
baseline	6,72±0,39	6,71±0,23	6,78±0,31	6,71±0,36	6,82±0,38	6,65±0,27	6,66±0,31
0	6,62±0,28	3,78±0,04	2,86±0,08	2,96±0,07	3,35±0,14	2,72±0,05	2,40±0,07
15	6,80±0,32	5,30±0,69	5,42±0,85	5,61±0,74	5,45±0,81	5,43±1,06	4,99±1,39
30	6,90±0,26	5,86±0,52	6,04±0,64	6,30±0,56	6,17±0,67	6,36±0,54	5,84±0,83
45	6,99±0,24	6,35±0,58	6,50±0,50	6,68±0,33	6,37±0,61	6,64±0,33	6,39±0,53
60	6,99±0,28	6,62±0,49	6,73±0,30	6,75±0,33	6,64±0,54	6,59±0,56	6,62±0,40
90	6,91±0,25	6,74±0,34	6,79±0,26	6,85±0,42	6,69±0,50	6,73± 0,36	6,66±0,31
120	6,91±0,25	6,91±0,33	6,86±0,37	6,92±0,36	6,93±0,40	6,75±0,41	6,76±0,31
ASC	588,0±30,1 ^A	505,7±47,3 ^B	508,7±40,4 ^B	522,1±40,0 ^B	509,3±55,1 ^B	509,9±46,8 ^B	490,1±60,1 ^B

Tratamentos seguidos por letras distintas nas linhas diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

6. DISCUSSÃO

A capacidade de um refrigerante ou suco causar erosão no esmalte dental depende primeiramente do pH da bebida (Larsen & Nyvad, 1999). O pH abaixo do qual o esmalte erosiona é suposto como sendo 4,5 e este é um valor útil pelo qual julgar o potencial erosivo de uma bebida. O pH de todos os sucos de frutas analisados no presente estudo foi ácido, dentro de uma estreita faixa de valores de 2,52 a 3,47. Muitas destas frutas provavelmente contêm uma mistura de ácidos orgânicos, tais como, ácido cítrico, málico e oxálico. Em acréscimo, a faixa de pH destes sucos de frutas foi também muito similar a de outras bebidas que são bem conhecidas como erosivas. Por exemplo, refrigerantes apresentam um pH em torno de 3,1-3,2; refrigerantes alcoólicos (“alcopops”) na faixa de 2,6-2,9 (Ablal *et al.*, 2009) e vinho branco apresenta uma faixa de pH de 3,0 a 4,0. O esmalte dental é sensível ao meio ácido e em contato com soluções de pH igual ou inferior a 4,5 pode sofrer erosão (Larsen & Nyvad, 1999, Cairns *et al.*, 2002; Featherstone & Lussi, 2006). Entretanto, para avaliar a desmineralização ou perda mineral do esmalte deve-se enfatizar que, além da influência do pH (Larsen & Nyvad, 1999), outras características, como a acidez titulável (Edwards *et al.*, 1999), a quantidade de Ca presente nas bebidas (Grobler *et al.*, 1990; Larsen & Nyvad, 1999), assim como o tempo de exposição à solução ácida (Creanor *et al.*, 2011), são importantes.

Assim, em acréscimo ao pH inicial de uma bebida, é importante também avaliar o conteúdo ácido destas bebidas e isto é melhor refletido pela acidez titulável (Edwards *et al.*, 1999). Por um lado, os dados de pH dos sucos de frutas do presente estudo se relacionaram com os dados de acidez titulável, pois o suco de cupuaçu apresentou o maior pH e um dos menores valores de acidez titulável. Contrariamente, o suco de umbu apresentou o menor pH e o maior valor de acidez titulável. Entretanto, esta relação não foi observada para outros sucos, como por exemplo, o de taperebá. A acidez titulável das bebidas pode ser influenciada pela quantidade de H^+ na solução, entretanto a qualidade do ácido, se fraco ou forte, com e sem efeito quelante, não pode ser desprezada e para estes sucos não temos definições de tipos de ácidos presentes nestes frutos. Portanto, podemos afirmar pelos dados de pH que todos são ácidos, mas não sabemos quais são seus ácidos constituintes e que qualidade tamponante apresentam individualmente.

Por outro lado, o tempo total da exposição e o grau da lesão erosiva provocada também são de importância no processo da erosão dental, pois com o tempo de exposição e a profundidade da lesão erosiva nenhum fator anteriormente citado tem qualquer controle no processo da erosão (Ganss *et al.*, 2005; Attin *et al.*, 2006; Hara *et al.*, 2008). Para Creanor *et al.* (2011), a exposição intermitente à solução ácida pode causar maior desmineralização que a contínua. No presente trabalho, os blocos de esmalte dental foram submetidos a exposições intermitentes dos tratamentos (sucos), que apresentaram valores de pH variando de 2,5 (umbu) a 3,5 (cupuaçu), e diferentes concentrações de cálcio, porém com exceção dos sucos de taperebá e de cupuaçu, não houve diferença na acidez titulável dos demais sucos.

Por sua vez, a quantidade de cálcio encontrada nos sucos do presente estudo não foi suficiente para equilibrar a saturação deste mineral no meio, evitando a perda de mineral dos blocos de esmalte. Nos trabalhos onde foi relatado menor grau erosivo nas bebidas que continham maior concentração de Ca, todos os líquidos testados tiveram adição de Ca em sua composição (Hughes *et al.*, 1999; Davis *et al.*, 2007; Hara & Zero, 2008). No entanto, não são encontrados, naturalmente, sucos ou bebidas com concentrações de Ca suficiente para que haja equilíbrio entre este mineral no meio líquido avaliado e o bloco ou elemento dentário. No presente estudo, os blocos dentais tratados com o suco de cupuaçu, que apresentou a menor concentração de cálcio (0,68 mM), apresentaram a menor %PDS e menor perda de superfície pela análise de perfilometria. O taperebá, apesar de apresentar a maior concentração de cálcio (2,24 mM) que os demais sucos, não diferiu significativamente dos sucos de araçá-boi e camu-camu quanto à perda de superfície, por exemplo, sucos estes que apresentaram significativamente menos cálcio (1,41 e 1,27 mM, respectivamente).

Portanto, nem o pH, nem a acidez titulável, ou ainda, a quantidade de cálcio presente nos sucos podem ser definidos como agentes etiológicos isolados da lesão erosiva. Para Barlett *et al.* (1999) e Lussi & Jaeggi (2008), a lesão erosiva é multifatorial e dependente do fator de tolerância, que pode ser de caráter individual.

Com relação à %PDS do esmalte, foi evidente a influência do tempo de exposição dos blocos dentais aos tratamentos, pois após o primeiro dia de tratamentos, a %PDS provocada pelos diferentes sucos foi praticamente equivalente, com apenas o suco de umbu diferindo significativamente do ácido cítrico. Entretanto, com a continuidade da exposição dos

blocos de esmalte dental aos sucos, perdas minerais mais consistentes foram observadas, diferenciando os sucos quanto ao seu potencial erosivo. Após 72 horas de experimento, foi realizada a última análise de dureza de superfície em todos os blocos dentais de todos os tratamentos, devido à perda da superfície ocorrida pela lesão erosiva, que impossibilitou a determinação da dureza de superfície em todos os blocos dentais de alguns tratamentos ao final do quarto e do quinto dia. Os resultados de %PDS podem ser em parte explicados pelos dados de pH dos sucos, pois o suco com o maior pH, o de cupuaçu, apresentou a menor %PDS entre os sucos em todos os tempos analisados, 24 a 72 h. Este dado é também suportado pelos dados de perda de superfície na análise perfilométrica. Por outro lado, o suco de umbu, que apresentou o menor pH entre os sucos estudados, foi um dos mais erosivos quando consideramos a %PDS em todos os tempos analisados e a perda de superfície também. Entretanto, o suco de camu-camu apresentou um pH próximo ao do umbu e inclusive do araçá-boi, mas não levou a perdas minerais tão significativas quanto estes outros, sugerindo que alguma outra característica do suco possa estar envolvida.

Para Stenhagen *et al.* (2010), dos métodos utilizados para avaliar desmineralização ou lesão erosiva no esmalte, a análise de dureza da superfície parece mais adequada, entretanto sua indicação deve restringir-se apenas às pequenas alterações na superfície de esmalte, afirmação extremamente pertinente aos nossos resultados, onde só foi possível realizar a mensuração da perda de dureza até 72 horas de experimento. Comparando a leitura perfilométrica ao final de 5 dias de experimento, pode-se observar que houve uma diferença de resultados com os dados de %PDS, apesar de não muito significativa, mas mostra que a análise de dureza de superfície foi importante para mostrar perdas minerais pouco profundas.

Os dados de erosão deste estudo *in vitro* devem, no entanto, ser interpretados com um certo grau de precaução, pois eles tendem a superestimar a quantidade de esmalte perdido. Um ponto importante é que a superfície de esmalte numa situação *in vivo* estará coberta por uma película protetora (Amaechi *et al.*, 1999; Hara *et al.*, 2006) ou ainda por biofilme dental e os dentes estarão sujeitos aos efeitos tamponantes, remineralizantes e de lavagem da saliva (Hall *et al.*, 1999). Uma das limitações do modelo *in vitro* utilizado é que não há formação da película adquirida sobre a superfície dos blocos dentais, o que poderia minimizar as perdas minerais ocorridas.

Os resultados do experimento *in vivo* demonstraram que, na primeira coleta de saliva após exposição aos sucos, houve diminuição no pH salivar para todos os sucos testados e também para o ácido cítrico com exceção da água, sem grande diferença entre os mesmos. No entanto, o fluxo salivar possibilitou que a recuperação da neutralidade do ambiente oral fosse iniciada logo nos primeiros 15 segundos após o contato com os sucos. Após 15 segundos da exposição aos sucos, nenhum apresentou pH crítico para erosão, demonstrando que a saliva neste modelo experimental teve capacidade de reverter a acidez dos sucos utilizados neste estudo.

Estes sucos devem agora ser testados em um modelo *in situ* para certificar se este potencial erosivo demonstrado *in vitro* teria condições de na cavidade oral, com presença de película adquirida e saliva banhando a superfície dentária constantemente, promover perda da superfície de blocos dentais fixados em um dispositivo palatino, por exemplo.

7. CONCLUSÕES

Considerando as limitações dos modelos *in vitro* e *in vivo* utilizados, é possível concluir que:

- Os sucos das frutas araçá-boi (*Eugenia stipitata*), camu-camu (*Miracyria dubia*), cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*), taperebá (*Spondia mombim*) e umbu (*Spondia tuberosa*) apresentam potencial para causar erosão no esmalte dental;

- A saliva humana é capaz de rapidamente tamponar e lavar os ácidos provenientes dos sucos de frutas testados.

8. REFERÊNCIAS*[¶]

1. Ablal MA, Kaur JS, Cooper L, Jarad FD, Milosevic A, Higham SM *et al.* The erosive potential of some alcopops using bovine enamel: an *in vitro* study. J Dent. 2009; 37(11): 835-9.
2. Akachi T, Shiina Y, Kawaguchi T, Kawagishi H, Morita T, Sugiyama K. 1-methylmalate from camu-camu (*Myrciaria dubia*) suppressed D-galactosamine-induced liver injury in rats. Biosci Biotechnol Biochem. 2010; 74(3): 573-8.
3. Amaechi BT, Higham SM, Edgar WM, Milosevic A. Thickness of acquired salivary pellicle as a determinant of the sites of dental erosion. J Dent Res. 1999; 78(12): 1821-8.
4. Arnadottir IB, Holbrook WP, Eggertsson H, Gudmundsdottir H, Jonsson SH, Gudlaugsson JO *et al.* Prevalence of dental erosion in children: a national survey. Community Dent Oral Epidemiol. 2010; 38 (6): 521-6.
5. Attin T. Methods for assessment of dental erosion. Monogr Oral Sci. 2006; 20: 152-72.
6. Attin T, Becker K, Roos M, Attin R, Paqué F. Impact of storage conditions on profilometry of eroded dental hard tissue. Clin Oral Investig. 2009; 13(4): 473-8.
7. Auad SM, Waterhouse PJ, Nunn JH, Steen N, Moynihan PJ. Dental erosion amongst 13- and 14-year-old Brazilian schoolchildren. Int Dent J. 2007; 57(3): 161-7.
8. Azevedo-Meleiro CH, Rodriguez-Amaya DB. Confirmation of identity of the carotenoids of tropical fruits by HPLC-DAC and HPLC- MS. J Food Compost Anal. 2004; 17: 385-96.
9. Bartlett D, Phillips K, Smith B. A difference in perspective--the North American and European interpretations of tooth wear. Int J Prosthodont. 1999; 12(5): 401-8.
10. Box GEP, Hunter JS, Hunter WG. Statistics for experimenters: design, innovation, and discovery. 2nd ed. New York: John Wiley & Sons Inc, 2005.
11. Cairns AM, Watson M, Creanor SL, Foye RH. The pH and titratable acidity of a range of diluting drinks and their potential effect on dental erosion. J Dent. 2002; 30(7-8): 313-7.

*[¶] De acordo com as normas da UNICAMP/FOP, baseada na norma do International Committee of Medical Journal Editors – Grupo de Vancouver. Abreviatura dos periódicos em conformidade com o Medline.

12. Ceva-Antunes PM, Bizzo HR, Alves SM, Antunes OA. Analysis of volatile compounds of taperebá (*Spondias mombin* L.) and cajá (*Spondias mombin* L.) by simultaneous distillation and extraction (SDE) and solid phase microextraction (SPME). J Agric Food Chem. 2003; 51(5): 1387-92.
13. Chuenarrom C, Benjakul P. Comparison between a profilometer and a measuring microscope for measurement of enamel erosion. J Oral Sci. 2008; 50(4): 475-9.
14. Correr GM, Alonso RC, Correa MA, Campos EA, Baratto-Filho F, Puppim-Rontani RM. Influence of diet and salivary characteristics on the prevalence of dental erosion among 12-year-old schoolchildren. J Dent Child . 2009; 76 (3): 181-7.
15. Creanor S, Creanor S, Alharthy N. A comparison of in vitro erosion-like mineral loss between continuous and intermittent acidic exposure with and without human saliva. Arch Oral Biol. 2011; 56(7): 703-8.
16. Davis RE, Marshall TA, Qian F, Warren JJ, Wefel JS. In vitro protection against dental erosion afforded by commercially available, calcium-fortified 100 percent juices. J Am Dent Assoc. 2007; 138(12): 1593-8.
17. Dib Taxi CM, Menezes HC, Santos AB, Grosso CR. Study of the microencapsulation of camu-camu (*Myrciaria dubia*) juice. J Microencapsul. 2003; 20(4): 443-8.
18. Edwards M, Creanor SL, Foye RH, Gilmour WH. Buffering capacities of soft drinks: the potential influence on dental erosion. J Oral Rehabil. 1999; 26(12): 923-7.
19. Ehlen LA, Marshall TA, Qian F, Wefel JS, Warren JJ. Acidic beverages increase the risk of in vitro tooth erosion. Nutr Res. 2008; 28(5): 299-303.
20. Ericsson Y, Hardwick L. Individual diagnosis, prognosis and counselling for caries prevention. Caries Res. 1978; 12: 94-102.
21. Featherstone JD, Lussi A. Understanding the chemistry of dental erosion. Monogr Oral Sci. 2006; 20: 66-76.
22. Franco MR, Shibamoto T. Volatile composition of some Brazilian fruits: umbu-caja (*Spondias citherea*), camu-camu (*Myrciaria dubia*), araçá-boi (*Eugenia stipitata*), and cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*). J Agric Food Chem. 2000; 48(4): 1263-5.
23. Fushida CE, Cury JA. Estudo in situ do efeito da frequência de ingestão de coca-cola na erosão do esmalte-dentina e reversão pela saliva/ In situ evaluation of enamel-dentin

- erosion by beverage and recovery by saliva. *Rev Odontol Univ Sao Paulo*. 1999; 13(2): 127-34.
24. Ganss C, Lussi A, Klimek J. Comparison of calcium/phosphorus analysis, longitudinal microradiography and profilometry for the quantitative assessment of erosive demineralisation. *Caries Res*. 2005; 39(3): 178-84.
 25. Grenby TH. Methods of assessing erosion and erosive potential. *Eur J Oral Sci*. 1996; 104(2): 207-14.
 26. Grobler SR, Senekal PJ, Kotze TJ. The degree of enamel erosion by five different kinds of fruit. *Clin Prev Dent*. 1989; 11(5): 23-8.
 27. Grobler SR, Senekal PJ, Laubscher JA. In vitro demineralization of enamel by orange juice, apple juice, Pepsi Cola and diet Pepsi Cola. *Clin Prev Dent*. 1990; 12(5): 5-9.
 28. Gurgel CV, Rios D, Buzalaf MA, da Silva SM, Araújo JJ, Pauletto AR, de Andrade Moreira Machado MA. Dental erosion in a group of 12- and 16-year-old Brazilian schoolchildren. *Pediatr Dent*. 2011; 33 (1): 23-8.
 29. Hannig C, Berndt D, Hoth-Hannig W, Hannig M. The effect of acidic beverages on the ultrastructure of the acquired pellicle--an in situ study. *Arch Oral Biol*. 2009; 54(6): 518-26.
 30. Hall AF, Buchanan CA, Millett DT, Creanor SL, Strang R, Foye RH. The effect of saliva on enamel and dentine erosion. *J Dent* 1999; 27(5): 333-9.
 31. Hara AT, Ando M, González-Cabezas C, Cury JA, Serra MC, Zero DT. Protective effect of the dental pellicle against erosive challenges in situ. *J Dent Res*. 2006; 85(7): 612-6.
 32. Hara AT, Zero DT. Analysis of the erosive potential of calcium-containing acidic beverages. *Eur J Oral Sci*. 2008; 116(1): 60-5.
 33. Hara AT, González-Cabezas C, Creeth J, Zero DT. The effect of human saliva substitutes in erosion-abrasion cycling model. *Eur J Oral Sci*. 2008; 116(6): 552-6.
 34. Harding MA, Whelton H, O'Mullane DM, Cronin M. Dental erosion in 5-year-old Irish school children and associated factors: a pilot study. *Community Dent Health*. 2003; 20(3): 165-70.

35. Hemingway CA, White AJ, Shellis RP, Addy M, Parker DM, Barbour ME. Enamel erosion in dietary acids: inhibition by food proteins in vitro. *Caries Res.* 2010; 44(6): 525-30.
36. Hjortsjö C, Jonski G, Young A, Saxegaard E. Effect of acidic fluoride treatments on early enamel erosion lesions--a comparison of calcium and profilometric analyses. *Arch Oral Biol.* 2010; 55(3): 229-34.
37. Hooper SM, Newcombe RG, Faller R, Eversole S, Addy M, West NX. The protective effects of toothpaste against erosion by orange juice: studies in situ and in vitro. *J Dent.* 2007; 35(6): 476-81.
38. Hughes JA, West NX, Parker DM, Newcombe RG, Addy M. Development and evaluation of a low erosive blackcurrant juice drink. 3. Final drink and concentrate, formulae comparisons *in situ* and overview of the concept. *J Dent.* 1999; 27(5): 345-50.
39. Hugo FN, Souza MAL, Corso AC, Padilha DMP. Efeito erosivo in vitro de um vinho tinto brasileiro sobre esmalte bovino observado em microscopia eletrônica de varredura/ In vitro erosive effect of a brazilian red wine on bovine enamel observed in scanning electron microscopy. *Rev Odonto Ciênc.* 2006; 21(51): 71-6.
40. Imfeld T. Dental erosion. Definition, classification and links. *Eur J Oral Sci.* 1996; 104(2): 151-5.
41. Inoue T, Komoda H, Uchida T, Node K. Tropical fruit camu-camu (*Myrciaria dubia*) has anti-oxidative and anti-inflammatory properties. *J Cardiol.* 2008; 52(2): 127-32.
42. Larsen MJ, Nyvad B. Enamel erosion by some drinks and orange juices relative to their pH, buffering effect and contents of calcium phosphate. *Caries Res.* 1999; 33(1): 81-7.
43. Leslie AE, Teresa AM, Fang Q, James SW, John JW. Acidic Beverages the risk of in vitro tooth erosion. *Nutr Res.* 2008; 28(5): 299-303.
44. Lussi A, Schaffner M, Hotz P, Suter P. Dental erosion in a population of Swiss adults. *Community Dent Oral Epidemiol.* 1991; 19 (5): 286-90.
45. Lussi A, Kohler N, Zero D, Schaffner M, Megert B. A comparison of the erosive potential of different beverages in primary and permanent teeth using an in vitro model. *Eur J Oral Sci.* 2000; 108(2): 110-4.

46. Lussi A, Jaeggi T, Zero D. The role of diet in the aetiology of dental erosion. *Caries Res.* 2004; 38(1):34-44.
47. Lussi A (ed): *Dental Erosion. Monogr. Oral Sci.* Basel, Karger, 2006; 20: 152-72.
48. Lussi A, Jaeggi T. Chemical factors. *Monogr Oral Sci.* 2006; 20: 77-87.
49. Lussi A, Jaeggi T. Erosion--diagnosis and risk factors. *Clin Oral Investig.* 2008; 12(1): S5-S13.
50. Lussi A, Megert B, Peter Shellis R, Wang X. Analysis of the erosive effect of different dietary substances and medications. *Br J Nutr.* 2011; 30: 1-11.
51. Meurman JH, ten Cate JM. Pathogenesis and modifying factors of dental erosion. *Eur J Oral Sci.* 1996; 104(2): 199-206.
52. Millward A, Shaw L, Smith A. Dental erosion in four-year-old children from differing socioeconomic backgrounds. *ASDC J Dent Child.* 1994; 61(4): 263-6.
53. Milosevic A, Slade PD. The orodental status of anorexics and bulimics. *Br Dent J.* 1989; 167(2): 66-70.
54. Murrell S, Marshall TA, Moynihan PJ, Qian F, Wefel JS. Comparison of in vitro erosion potentials between beverages available in the United Kingdom and the United States. *J Dent.* 2010; 38(4): 284-9.
55. Nunn JH: Prevalence of dental erosion and the implications for oral health. *Eur J Oral Sci.* 1996; 104(2): 156-61.
56. O'Sullivan EA, Curzon ME, Roberts GJ, Milla PJ, Stringer MD. Gastroesophageal reflux in children and its relationship to erosion of primary and permanent teeth. *Eur J Oral Sci.* 1998; 106 (3): 765-9.
57. Phelan J, Rees J. The erosive potential of some herbal teas. *J Dent.* 2003; 31(4): 241-6.
58. Rees J, Loyn T, McAndrew R. The acidic and erosive potential of five sports drinks. *Eur J Prosthodont Restor Dent.* 2005; 13(4): 186-90.
59. Ren YF, Zhao Q, Malmstrom H, Barnes V, Xu T. Assessing fluoride treatment and resistance of dental enamel to soft drink erosion in vitro: applications of focus variation 3D scanning microscopy and stylus profilometry. *J Dent.* 2009; 37(3):167-76.

60. Serra MC, Cury JA. The in vitro effect of glass-ionomer cement restoration on enamel subjected to a demineralization and remineralization model. *Quintessence Int.* 1992; 23(2): 143-7.
61. Scheutzel P. Etiology of dental erosion – intrinsic factors. *Eur J Oral Sci.* 1996; 104(2): 178-90.
62. Silva FV, Martins RC, Silva CL. Design and optimization of hot-filling pasteurization conditions: cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*) fruit pulp case study. *Biotechnol Prog.* 2003; 19(4): 1261-8.
63. Sobral MA, Luz MA, Gama-Teixeira A, Garone Netto N. Influence of the liquid acid diet on the development of dental erosion. *Pesqui Odontol Bras.* 2000; 14(4): 406-10.
64. Sreebny LM. Saliva in health and disease: an appraisal and update. *Int Dent J.* 2000; 50(3): 140-61.
65. Stenhagen KR, Hove LH, Holme B, Taxt-Lamolle S, Tveit AB. Comparing different methods to assess erosive lesion depths and progression in vitro. *Caries Res.* 2010; 44(6): 555-61.
66. Tenuta LMA, Kawachi CDP, Brunharo NM, Andrade TM, Caetano CR, Corradini GF, Barbosa MRS, Vitti BV, Cury JA. Saliva pH after consumption of beverages with distinct buffer capacities [abstract 3356]. *J Dent Res* 2009; 88 Spec. Issue A.
67. Touyz LZ, Silove M. Increased acidity in frozen fruit juices and dental implications. *ASDC J Dent Child.* 1993; 60(3): 223-5.
68. West NX, Maxwell A, Hughes JA, Parker DM, Newcombe RG, Addy M. A method to measure clinical erosion: the effect of orange juice consumption on erosion of enamel. *J Dent.* 1998; 26(4): 329-35.
69. White DJ. Reactivity of fluoride dentifrices with artificial caries I. Effects on early lesions: F uptake, surface hardening and remineralization. *Caries Res.* 1987; 21(2): 126-40.
70. Zero DT. Etiology of dental erosion – extrinsic factors. *Eur J Oral Sci.* 1996; 104(2): 162-77.

9. ANEXOS

9.1 CERTIFICADO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

Comitê de Ética em Pesquisa - Certificado Page 1 of 1



COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA
UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS



CERTIFICADO

O Comitê de Ética em Pesquisa da FOP-UNICAMP certifica que o projeto de pesquisa **"Avaliação in vivo do pH salivar após exposição a sucos de frutas tropicais brasileiras"**, protocolo nº 107/2010, dos pesquisadores Cinthia Pereira Machado Tabchoury, Adelsilene das Graças Cavalcanti Veras, Jaime Aparecido Cury, Karla Evelyn Cook e Lívia Maria Andaló Tenuta, satisfaz as exigências do Conselho Nacional de Saúde - Ministério da Saúde para as pesquisas em seres humanos e foi aprovado por este comitê em 13/10/2010.

The Ethics Committee in Research of the School of Dentistry of Piracicaba - State University of Campinas, certify that the project **"In vivo assessment of salivary pH after exposure to brazilian tropical fruit juices"**, register number 107/2010, of Cinthia Pereira Machado Tabchoury, Adelsilene das Graças Cavalcanti Veras, Jaime Aparecido Cury, Karla Evelyn Cook and Lívia Maria Andaló Tenuta, comply with the recommendations of the National Health Council - Ministry of Health of Brazil for research in human subjects and therefore was approved by this committee at 10/13/2010.



Prof. Dr. Pablo Agustin Vargas
Secretário
CEP/FOP/UNICAMP



Prof. Dr. Jacks Jorge Junior
Coordenador
CEP/FOP/UNICAMP

Nota: O título do protocolo aparece como fornecido pelos pesquisadores, sem qualquer edição.
Notice: The title of the project appears as provided by the authors, without editing.

<http://www.fop.unicamp.br/cep/sistema/certificado.php?Protocolo=107/2010&Id=340&Passo=2&DataPar=2010-10-13>

27/5/2011

9.2. ANÁLISE EXPLORATÓRIA DE DADOS

Adotou-se neste estudo o nível de significância $\alpha = 0,05$. Assim, foram considerados significativos os parâmetros e/ou funções lineares de seus níveis, tais que $p \leq 0.05$.

Dado que optou-se pela utilização da estatística paramétrica, todos os procedimentos inferenciais, isto é, os testes de hipóteses e as estimativas por intervalo (intervalos de confiança), foram precedidos por testes de homogeneidade de variâncias (Cochran) e de normalidade (Kolmogorov-Smirnov).

Como pode ser observado na tabela 1.1, não foram detectados “problemas” com a normalidade. No entanto, as variáveis: Cálcio, Perda de Superfície e Dureza 24horas não atenderam as condições de homogeneidade de variâncias. Sendo assim, foram utilizadas transformações de dados que levaram à homogeneidade: transformação seno para o cálcio, raiz cúbica (para contemplar os valores negativos) para a perda de superfície e, para a dureza 24h foram utilizados os dados originais em lugar de porcentagens. De todo modo, embora a inferência estatística tenha sido realizada sobre as variáveis transformadas procurou-se, em prol da simplificação das interpretações, apresentar os resultados em termos das respostas originais.

Tabela 1.1 – Valores “p” para os testes das pressuposições do modelo paramétrico.

VARIÁVEL	Testes	
	Homogeneidade de Variâncias	de Normalidade
pH	0,5788	$0,10 < p < 0,15$
mmoles NaOH	0,8519	$0,5 < p < 0,10$
Cálcio	$< 0,0001$	$p > 0,20$
Seno (Cálcio)	0,0618	$p > 0,20$
Perda de Superfície	0,0121	$0,10 < p < 0,15$
(Perda de Superfície) ^{1/3}	0,1099	$p > 0,20$

Dureza Inicial	0,9211	$p > 0,20$
% PDS 24horas	0,0035	$p > 0,20$
Dureza 24horas	0,0521	$p > 0,20$
% PDS 48horas	0,3253	$p > 0,20$
% PDS 72horas	0,8007	$p > 0,20$
AUC	0,3874	$0,15 < p < 0,20$

Observação

Sistema estatístico utilizado:

STATISTICA – Data Analysis Software System – Version 10 (2011)

StatSoft, Inc – 2300 East 14th St. Tulsa, OK 74104, USA

www.statsoft.com

9.2. ANÁLISE ESTATÍSTICA DAS VARIÁVEIS

9.2.1 - pH

a) Síntese das respostas observadas

Uma idéia geral do pH dos sucos utilizados pode ser obtida na tabela 2.1.a e visualizada na figura de mesmo número.

Tabela 2.1.a – Análise descritiva para o pH dos sucos utilizados.

Tratamentos	Estimativa da Média	Desvio Padrão Estimado	Erro Padrão da Estimativa	Número de Observações
Araçá-boi	2,90	0,09	0,04	6
Camu-camu	2,80	0,08	0,03	6
Cupuaçú	3,47	0,04	0,02	6
Taperebá	2,73	0,06	0,02	6
Umbú	2,52	0,09	0,03	6

b) Inferência Estatística

Observa-se na análise de variância, descrita na tabela 2.1.b, a significância dos tratamentos ($p < 0.0001$), sugerindo a ocorrência de diferentes pH's médios conforme o suco testado. Tais diferenças podem ser localizadas na tabela 2.1.c, por meio dos p – valores resultantes do teste de comparações múltiplas de Tukey HS D (Honestly Significant Difference).

Tabela 2.1.b – Análise de variância da variável área.

Variações Consideradas	GL	Somas de Quadrados	Quadrados Médios	F _{Calculado}	Valor p
Tratamentos	4	3,0142	0,7536	138,2163	< 0,0001
Resíduo	25	0,1363	0,0055		
Total	29	3,1505			

Observa-se na tabela 2.1.c e visualiza-se na figura 2.1, que:

- O suco de Cupuaçu apresentou o maior pH médio (3,47) e foi estatisticamente superior aos dos demais sucos testados ($p < 0.05$).
- O suco de Umbú apresentou o menor pH médio (2,52) e foi estatisticamente inferior aos dos demais sucos testados ($p < 0.05$).
- O pH médio do suco de Camu-camu não diferiu estatisticamente dos pHs médios dos sucos de Araçá-boi ($p = 0.20$) e de Taperebá ($p = 0.51$).
- O pH médio do suco de Taperebá foi estatisticamente inferior ao do Araçá-Boi.

Tabela 2.1.c – Área – Resultados do teste de Tukey HSD

Tratamento	Araçá-boi	Camu-camu	Cupuaçu	Taperebá	Umbú
	2,90	2,80	3,47	2,73	2,52
Araçá-boi		0,20	<0,01	0,01	<0,01
Camu-camu	0,20		<0,01	0,51	<0,01
Cupuaçu	<0,01	<0,01		<0,01	<0,01
Taperebá	0,01	0,51	<0,01		<0,01
Umbú	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	

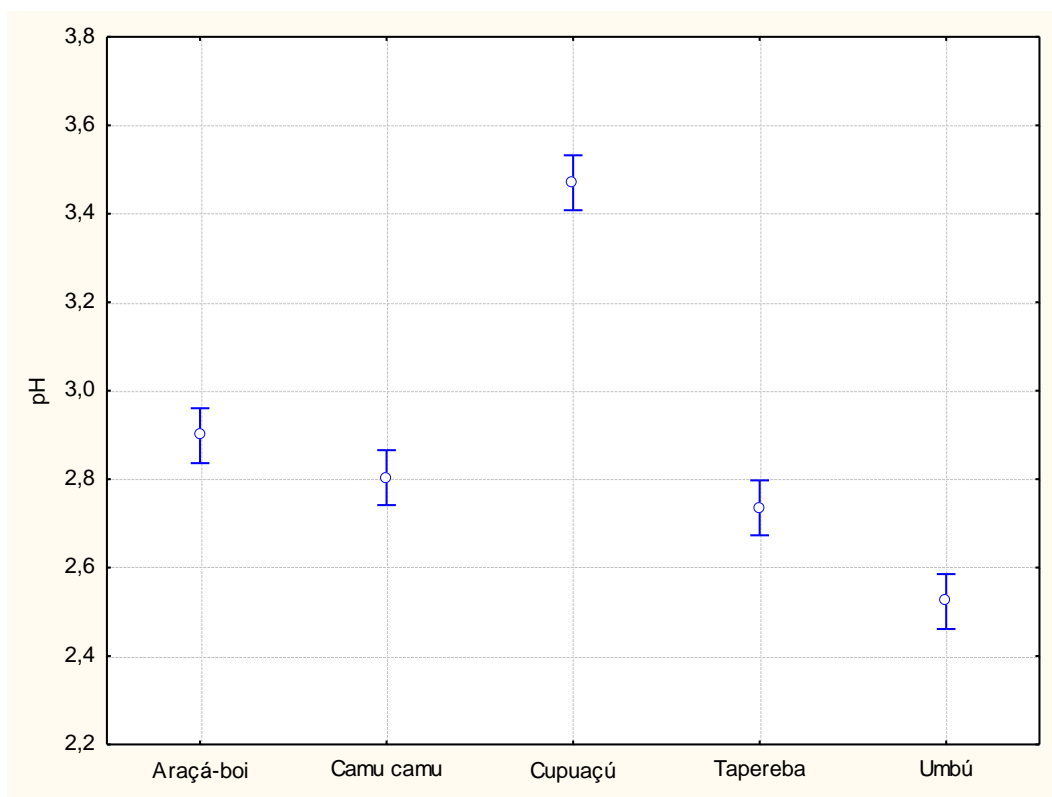


Figura 2.1 – Médias e intervalos de confiança (95%) para a variável pH segundo o suco considerado.

9.2.2 – Capacidade Tampão – m moles de NaOH

a) Síntese das respostas observadas

A tabela 2.2.a e a figura 2.2 apresentam uma idéia geral das respostas em mmoles de NaOH.

Tabela 2.2.a – Análise descritiva para o NaOH dos sucos utilizados.

Tratamentos	Estimativa da Média	Desvio Padrão Estimado	Erro Padrão da Estimativa	Número de Observações
Araçá-boi	8,17	0,52	0,21	6
Camu-camu	8,00	0,45	0,18	6
Cupuaçú	6,25	0,42	0,17	6
Taperebá	5,00	0,32	0,13	6
Umbú	8,33	0,52	0,21	6

b) Inferência Estatística

A tabela 2.2.b descreve a análise de variância e mostra que houve efeito de tratamento ($p < 0.0001$), indicando que os sucos diferiram estatisticamente, em média, quanto à capacidade de tamponamento. Tais diferenças podem ser localizadas na tabela 2.2.c, por meio dos p – valores resultantes do teste de comparações múltiplas de Tukey HSD.

Tabela 2.2.b – Análise de variância da variável NaOH.

Variações Consideradas	GL	Somas de Quadrados	Quadrados Médios	F _{Calculado}	Valor p
Tratamentos	4	51,5333	12,8833	63,8843	0,0001
Resíduo	25	5,0417	0,2017		
Total	29	56,5750			

Pela tabela 2.2.c observa-se que:

- Os sucos de Araçá-boi, Camu-camu e Umbú apresentaram as maiores médias para a variável mmoles de NaOH e não diferiram significativamente (estatisticamente) entre si. Entretanto, foram significativamente maiores que os sucos de Cupuaçu e Taperebá.
- A menor média de NaOH foi observada no suco de Taperebá, tendo sido significativamente inferior ($p < 0.01$) a todos os demais.
- A capacidade média de tamponamento avaliada por meio da variável mmoles de NaOH dos sucos de Cupuaçu e Taperebá foram estatisticamente menores de todos os demais sucos testados.

Tabela 2.2.c – NaOH – Resultados do teste de Tukey HSD

Tratamento	Araçá-boi	Camu-camu	Cupuaçu	Taperebá	Umbú
	8,17	8,00	6,25	5,00	8,33
Araçá-boi		0,97	<0,01	<0,01	0,97
Camu-camu	0,97		<0,01	<0,01	0,70
Cupuaçu	<0,01	<0,01		<0,01	<0,01
Taperebá	<0,01	<0,01	<0,01		<0,01
Umbú	0,97	0,70	<0,01	<0,01	

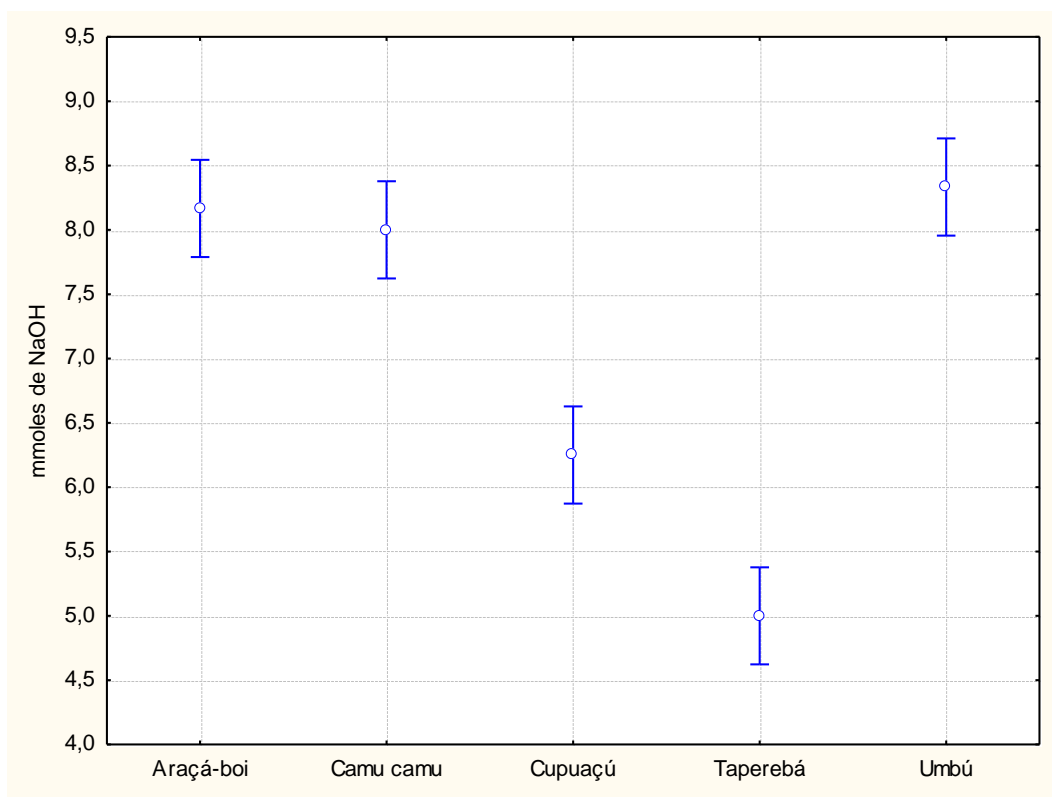


Figura 2.2 – Médias e intervalos de confiança (95%) para a variável NaOH segundo o suco considerado.

9.2.3 – Teor de Cálcio

a) Síntese das respostas observadas

A tabela 2.3.a e a figura 2.3 apresentam uma idéia geral do conteúdo de Cálcio para os diferentes sucos utilizados.

Tabela 2.3.a – Análise descritiva para o cálcio dos sucos utilizados.

Tratamentos	Estimativa da Média	Desvio Padrão Estimado	Erro Padrão da Estimativa	Número de Observações
Araçá-boi	1,41	0,23	0,10	6
Camu-camu	1,27	0,07	0,03	6
Cupuaçú	0,68	0,02	0,01	6
Taperebá	2,24	0,07	0,03	6

Umbú	2,06	0,05	0,02	6
------	------	------	------	---

b) Inferência Estatística

Dado que o teste de homogeneidade de variâncias foi significativo para a variável perda de dureza, os dados foram transformados, conforme discutido em (1). Nesse caso a transformação empregada foi seno do teor de cálcio. Observa-se, na tabela 2.3.b, que houve efeito de tratamento ($p < 0.0001$), indicando que o conteúdo de cálcio foi diferente conforme o suco considerado. A tabela 2.2.c apresenta os p – valores resultantes do teste de comparações múltiplas de Tukey HSD.

Tabela 2.3.b – Análise de variância da variável Cálcio – dados transformados.

Variações Consideradas	GL	Somas de Quadrados	Quadrados Médios	F _{Calculado}	Valor p
Tratamentos	4	0,4675	0,1169	171,5943	<0,0001
Resíduo	25	0,0170	0,0007		
Total	29	0,4846			

Pela tabela 2.3.c observa-se que:

- O maior teor médio de cálcio foi observado no suco de Taperabá, que foi significativamente superior ($p < 0.01$) a todos os demais.
- O menor teor médio de cálcio foi observado no suco de Cupuaçu, significativamente inferior ($p < 0.01$) a todos os demais.
- O teor de Cálcio do suco de Araçá-boi não diferiu estatisticamente, em média, apenas do teor de cálcio do suco de Camu-camu ($p = 0.94$).
- Os demais sucos diferem estatisticamente, em média, entre si para a variável teor de cálcio ($p < 0.01$):

Tabela 2.3.c – Cálcio – Resultados do teste de Tukey HSD

Tratamento	Araçá-boi	Camu-camu	Cupuaçú	Taperebá	Umbú
	1,41	1,27	0,68	2,24	2,06
Araçá-boi		0,94	< 0,01	< 0,01	< 0,01
Camu-camu	0,94		< 0,01	< 0,01	< 0,01
Cupuaçú	< 0,01	< 0,01		< 0,01	< 0,01
Taperebá	< 0,01	< 0,01	< 0,01		< 0,01
Umbú	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	

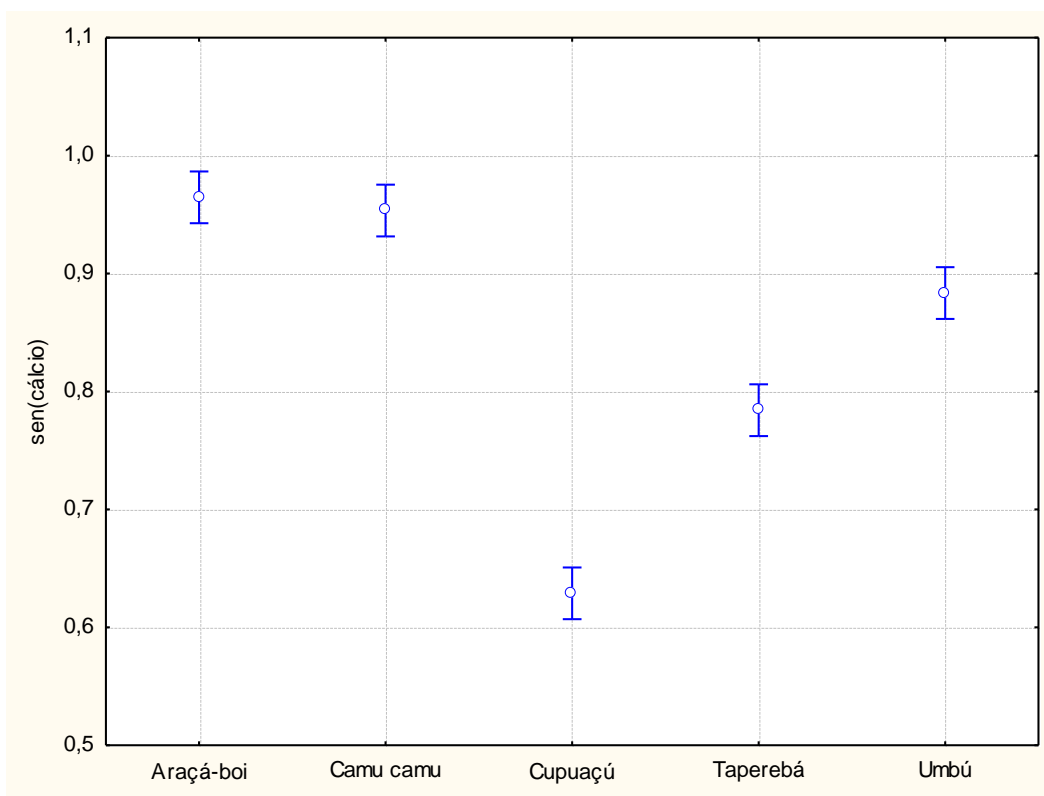


Figura 2.3 – Médias e intervalos de confiança (95%) para a variável Cálcio, segundo o suco considerado – Dados transformados.

9.2.4 – Perda de Superfície

a) Síntese das respostas observadas

Uma idéia geral da perda de superfície de acordo com os tratamentos utilizados pode ser obtida na tabela 2.4.a e visualizada na figura 2.4.

Tabela 2.4.a – Análise descritiva para a perda de superfície segundo o tratamento.

Tratamentos	Estimativa da Média	Desvio Padrão Estimado	Erro Padrão da Estimativa	Número de Observações
Água	0,22	0,22	0,10	5
Ácido Cítrico	0,54	0,36	0,16	5
Araçá-boi	2,33	0,96	0,43	5
Camu-camu	1,50	0,88	0,39	5
Cupuaçú	0,52	0,28	0,13	5
Taperebá	2,13	1,16	0,52	5
Umbú	3,19	1,13	0,50	5

Dado que o teste de homogeneidade de variâncias foi significativo para a variável perda de dureza, os dados foram transformados como descrito em (1). Nesse caso a transformação empregada foi raiz cúbica. A tabela 2.4.b apresenta a análise de variância, onde se verifica que houve efeito de tratamentos ($p < 0.0002$). Tais diferenças podem ser localizadas na tabela 2.4.c, que apresenta os p - valores resultantes do teste de comparações múltiplas de Tukey HSD.

Tabela 2.4.b – Análise de variância da variável perda de superfície – Dados transformados.

Variações Consideradas	GL	Somas de Quadrados	Quadrados Médios	F _{Calculado}	Valor p
Tratamentos	6	4,3278	0,7213	6,7345	0,0002
Resíduo	28	2,9989	0,1071		
Total	34	7,3267			

Na Tabela 2.4.c observa-se que:

- A menor perda de superfície foi observada com a utilização da água, que não diferiu estatisticamente, em média, da perda de superfície ocasionada com a utilização do Ácido Cítrico e do suco de Cupuaçu.
- Os maiores valores médios de perda de superfície foram observados com a utilização do suco de Umbú, sendo que a perda de superfície média para este suco não diferiu estatisticamente da perda de superfície média ocasionada com a utilização dos sucos de Araçá-boi, Camu-camu e Taperebá.
- A perda de superfície média observada com a utilização do suco de Camu-camu apenas diferiu estatisticamente da perda de superfície média observada para a água.
- A perda de superfície ocasionada pela utilização do ácido cítrico apenas diferiu estatisticamente da perda de superfície média ocasionada pela utilização dos sucos de Araçá-boi e de Umbú.

Tabela 2.4.c – Perda de Superfície – Dados transformados. Resultados do teste de Tukey HSD

Tratamento	Água 0,22	Ácido Cítrico 0,54	Araçá- boi 2,33	Camu- camu 1,50	Cupuaçu 0,52	Taperebá 2,13	Umbú 3,19
Água		0,95	<0,01	0,04	0,63	0,01	<0,01
Ácido	0,95		0,05	0,30	0,99	0,09	0,01
Araçá-boi	<0,01	0,05		0,96	0,19	1,00	0,99
Camu-camu	0,04	0,30	0,96		0,69	0,99	0,64
Cupuaçu	0,63	0,99	0,19	0,69		0,30	0,04
Taperebá	0,01	0,09	1,00	0,99	0,30		0,95
Umbú	<0,01	0,01	0,99	0,64	0,04	0,95	

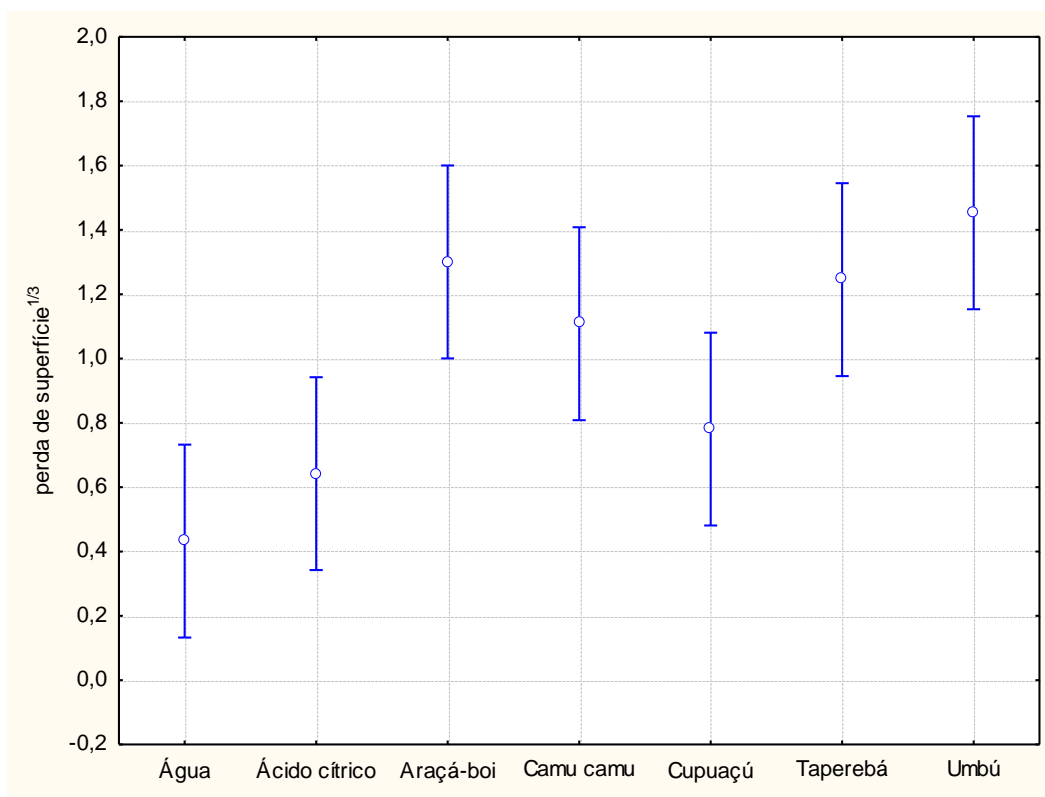


Figura 2.4 – Médias e intervalos de confiança (95%) para a variável Perda de Superfície segundo o suco considerado – Dados transformados.

9.2.5 - Dureza

Para os dados de superfície foram considerados as respostas originais (*Raw data*), e os valores percentuais de perda de dureza mensurados após 24horas, 48horas e 72horas.

2.5.1 – Dureza Inicial

a) Síntese das respostas observadas

A tabela 2.5.1.a e a figura 2.5.1 apresentam uma idéia geral dos dados referentes a dureza inicial dos blocos dentários, segundo o tratamento empregado.

Tabela 2.5.1.a – Análise descritiva para a dureza inicial segundo o tratamento.

Tratamentos	Estimativa da Média	Desvio Padrão Estimado	Erro Padrão da Estimativa	Número de Observações
Água	330,65	46,89	20,97	5
Ácido Cítrico	323,34	29,40	13,15	5
Araçá-boi	333,21	45,76	20,47	5
Camu-camu	318,76	46,30	20,71	5
Cupuaçu	328,74	33,09	14,80	5
Taperebá	344,11	37,07	16,58	5
Umbú	292,94	54,17	24,22	5

b) Inferência Estatística

Constata-se na análise de variância, descrita na tabela 2.5.1.b, que não houve efeito significativo de tratamentos ($p = 0.6443$) evidenciando que, no início do experimento, os blocos dentários apresentaram a mesma dureza média.

Tabela 2.5.1.b – Análise de variância da variável dureza inicial.

Variações Consideradas	GL	Somas de Quadrados	Quadrados Médios	F _{Calculado}	Valor p
Tratamentos	6	7731,6737	1288,6123	0,7100	0,6443
Resíduo	28	50815,1093	1814,8253		
Total	34	58546,7829			

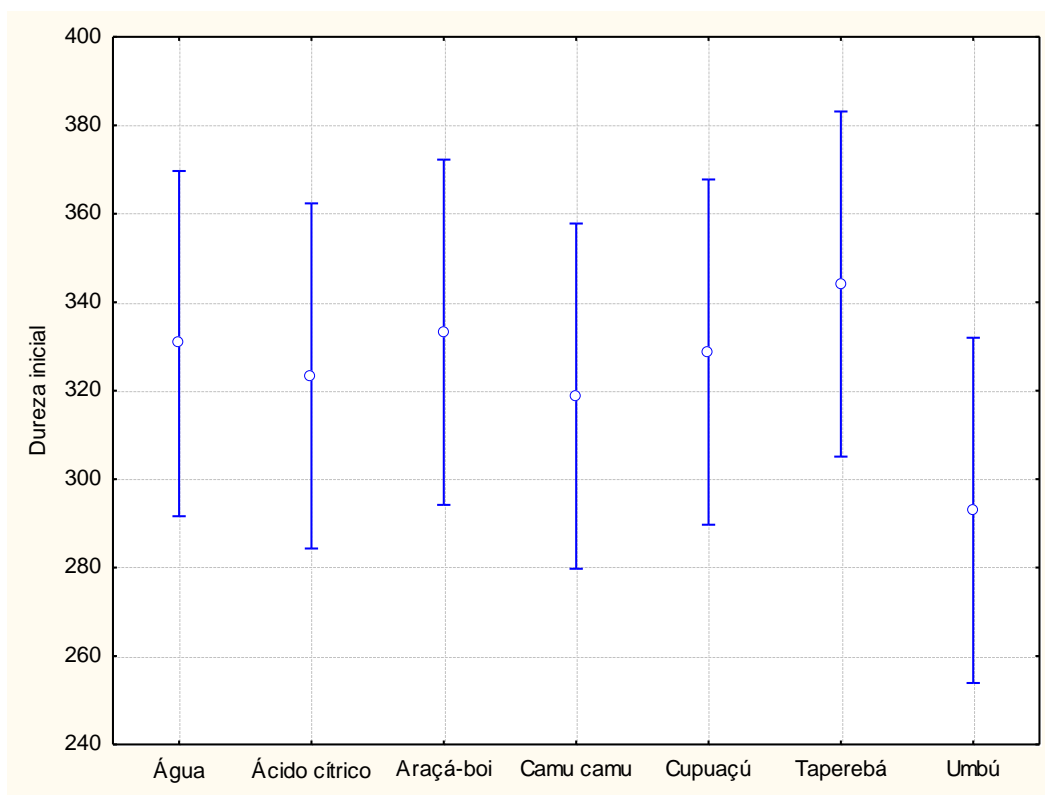


Figura 2.5.1 – Médias e intervalos de confiança (95%) para a variável dureza Inicial segundo o suco considerado.

9.2.5.2 – % PDS 24 horas

a) Síntese das respostas observadas

Uma idéia geral da % PDS após 24 horas para os diferentes sucos utilizados pode ser obtida na tabela 2.5.2.a e visualizada na figura 2.5.2.

Tabela 2.5.2.a – Análise descritiva para a % PDS segundo o tratamento após 24 horas.

Tratamentos	Estimativa da Média	Desvio Padrão Estimado	Erro Padrão da Estimativa	Número de Observações
Água	2,38	4,86	2,18	5
Ácido Cítrico	38,47	3,66	1,64	5

Araçá-boi	50,48	10,80	4,83	5
Camu-camu	49,45	8,62	3,86	5
Cupuaçú	40,01	21,88	9,79	5
Taperebá	60,82	21,23	9,49	5
Umbú	63,37	5,82	2,60	5

b) Inferência Estatística

Dado que o teste de homogeneidade de variâncias foi significativo para a variável % PDS, foram utilizados os dados na escala original de dureza conforme comentado em (1).

Observa-se na análise de variância descrita na tabela 2.5.2.b, que houve efeito de tratamentos ($p < 0.0001$), sugerindo a ocorrência de diferentes médias de PDS após 24 horas de acordo com o suco utilizado. Tais diferenças estão apresentadas na tabela 2.5.2.c, por meio dos p - valores resultantes do teste de comparações múltiplas de Tukey HSD.

Tabela 2.5.2.b – Análise de variância da variável Dureza após 24 horas.

Variações Consideradas	GL	Somas de Quadrados	Quadrados Médios	F _{Calculado}	Valor p
Tratamentos	6	146429,4300	24404,9050	10,9800	<0,0001
Resíduo	28	62234,8369	2222,6727		
Total	34	208664,2669			

Pela tabela 2.5.2.c observa-se que:

- Após 24 horas a menor PDS média foi observada nos blocos dentários em que se utilizou água, sendo estatisticamente menor que a média PDS ocasionada por todos os sucos utilizados.
- Os demais sucos não diferiram (dois a dois) entre si quanto a PDS em 24 horas.

Tabela 2.5.2.c – Dureza após 24 horas – Resultados do teste de Tukey HSD

Tratamento	Água	Ácido Cítrico	Araçá-boi	Camu-camu	Cupuaçú	Taperebá	Umbú
	2,38				40,01	60,82	63,37

		38,47	50,48	49,45			
Água		<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01
Ácido	<0,01		0,86	0,87	1,00	0,35	0,05
Araçá-boi	<0,01	0,86		1,00	0,94	0,97	0,51
Camu-camu	<0,01	0,87	1,00		0,94	0,97	0,50
Cupuaçú	<0,01	1,00	0,94	0,94		0,48	0,09
Taperebá	<0,01	0,35	0,97	0,97	0,48		0,95
Umbú	<0,01	0,05	0,51	0,50	0,09	0,95	

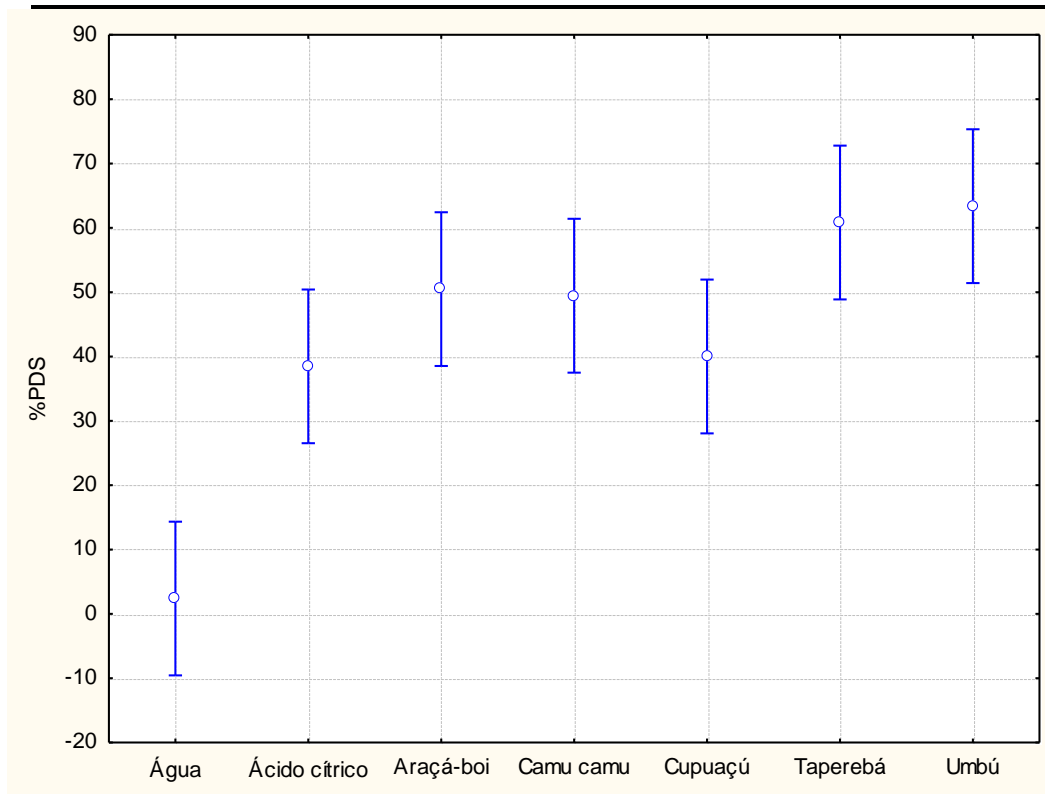


Figura 2.5.2 – Médias e intervalos de confiança (95%) para a variável %PDS segundo o suco considerado após 24horas.

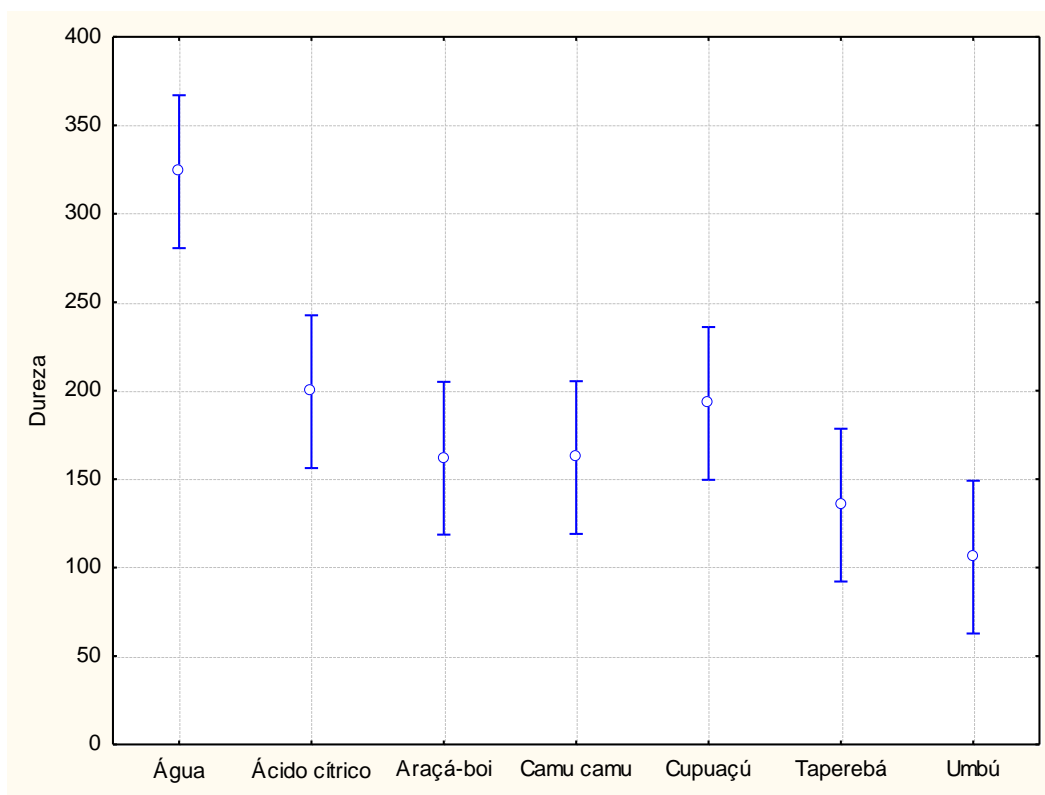


Figura 2.5.2 – Médias e intervalos de confiança (95%) para a variável Dureza segundo o suco considerado após 24horas (dados na escala original).

9.2.5.3 – % PDS 48 horas

a) Síntese das respostas observadas

A Tabela 2.5.3.a e a figura 2.5.3 apresentam uma idéia geral da % PDS após 48 horas.

Tabela 2.5.3.a – Análise descritiva da % PDS segundo o tratamento após 48 horas.

Tratamentos	Estimativa da Média	Desvio Padrão Estimado	Erro Padrão da Estimativa	Número de Observações
Água	6,66	9,98	4,46	5
Ácido Cítrico	43,08	4,31	1,93	5
Araçá-boi	60,27	13,25	5,93	5
Camu-camu	58,17	5,07	2,27	5
Cupuaçú	47,92	11,21	5,01	5

Taperebá	67,97	8,14	3,64	5
Umbú	66,14	12,65	5,66	5

b) Inferência Estatística

Observa-se na análise de variância, descrita na tabela 2.5.3.b, a significância dos tratamentos ($p < 0.0001$), sugerindo a ocorrência de diferentes % médias de PDS conforme o tratamento considerado. Tais diferenças podem ser localizadas na tabela 2.5.3.c, por meio dos p – valores resultantes do teste de comparações múltiplas de Tukey HSD.

Tabela 2.5.3.b – Análise de variância da variável %PDS após 48 horas.

Variações Consideradas	GL	Somas de Quadrados	Quadrados Médios	F _{Calculado}	Valor p
Tratamentos	6	13429,6779	2238,2797	23,3337	<0,0001
Resíduo	28	2685,8931	95,9248		
Total	34	16115,5710			

Na tabela 2.5.3.c observa-se que:

- Após 48 horas a % média de PDS para os blocos que foram imersos em água foi significativamente menor que a % média de PDS de todos os demais tratamentos.
- As maiores % médias de PDS após 48 horas foram observadas com a utilização dos sucos de Taperebá e Umbú, sem diferença significativa entre si. A % média de PDS devida ao Taperebá foi significativamente maior que as da Água ($p < 0.01$) do Ácido cítrico ($p = 0.01$) e do Cupuaçu ($p = 0.04$). A % média de PDS Umbu foi superior às da água ($p < 0.01$) e do ácido cítrico ($p = 0.01$).
- A menor % média de PDS foi observada para a água e foi significativamente menor que as % média de PDS de todos os outros tratamentos;
- Os demais valores médios de %PDS após 48 horas não diferiram estatisticamente entre si ($p > 0.05$).

Tabela 2.5.3.c – %PDS após 48horas – Resultados do teste de Tukey HSD.

Tratamento	Água 6,66	Ácido Cítrico 43,08	Araçá- boi 60,27	Camu - camu 58,17	Cupuaçú 47,92	Taperebá 67,97	Umbú 66,14
Água		<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01
Ácido	<0,01		0,12	0,22	0,99	0,01	0,01
Araçá-boi	<0,01	0,12		1,00	0,44	0,87	0,96
Camu-camu	<0,01	0,22	1,00		0,65	0,69	0,85
Cupuaçú	<0,01	0,99	0,44	0,65		0,04	0,08
Taperebá	<0,01	0,01	0,87	0,69	0,04		1,00
Umbú	<0,01	0,01	0,96	0,85	0,08	1,00	

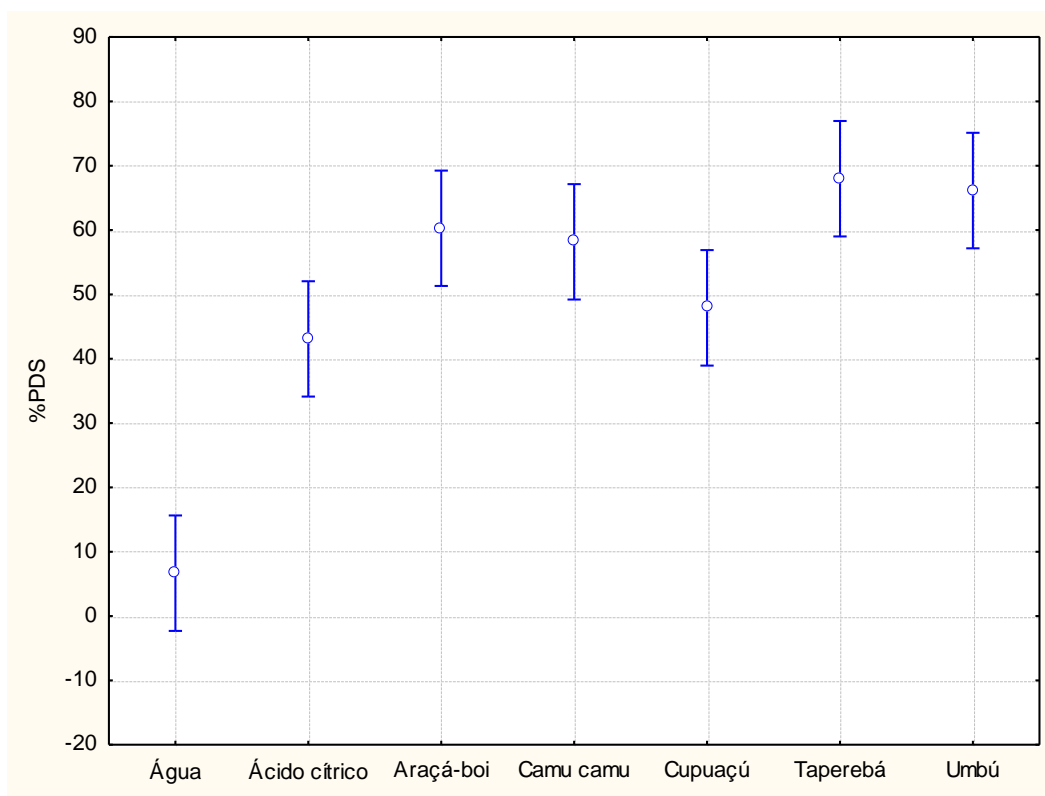


Figura 2.5.3 – Médias e intervalos de confiança (95%) para a variável %PDS segundo o suco considerado, após 48horas.

9.2.5.4 – % PDS 72 horas

a) Síntese das respostas observadas

Uma idéia geral da %PDS após 72 horas para as diferentes substâncias utilizadas pode ser obtida na tabela 2.5.4.a e visualizada na figura 2.5.4.

Tabela 2.5.4.a – Análise descritiva para a % PDS segundo o tratamento após 72 horas.

Tratamentos	Estimativa da Média	Desvio Padrão Estimado	Erro Padrão da Estimativa	Número de Observações
Água	3,33	5,97	2,67	5
Ácido Cítrico	50,69	6,68	2,99	5
Araçá-boi	77,85	4,17	2,09	5
Camu-camu	65,34	3,90	1,74	5
Cupuaçú	53,80	6,95	3,47	5
Taperebá	74,80	4,79	2,14	5
Umbú	77,29	3,37	1,51	5

b) Inferência Estatística

A tabela 2.5.4.b apresenta a análise de variância, na qual se constata a existência de efeito de tratamento ($p < 0.0001$), indicando a ocorrência de diferentes % médias de PDS após 72 horas, segundo o suco utilizado. Tais diferenças podem ser encontradas na tabela 2.5.4.c que apresenta os p – valores resultantes do teste de comparações múltiplas de Tukey HSD.

Tabela 2.5.4.b – Análise de variância da variável % PDS após 72 horas.

Variações Consideradas	GL	Somas de Quadrados	Quadrados Médios	F _{Calculado}	Valor p
Tratamentos	6	20369,5347	3394,9224	123,2007	<0,0001
Resíduo	26	716,4571	27,5560		
Total	32	21085,9917			

Por meio da tabela 2.5.4.c observa-se que:

- Após 72 horas a %PDS média para os blocos que foram imersos em água foi estatisticamente inferior às médias de todos os demais.
- A %PDS média obtida com a utilização do ácido cítrico após 72 horas não diferiu estatisticamente da %PDS média obtida com a utilização do suco de Cupuaçu.
- A %PDS média obtida com a utilização do ácido cítrico após 72 horas foi inferior a %PDS média obtida com a utilização dos sucos de Araçá-boi, Camu-camu, Taperebá e Umbu ($p < 0.01$).
- As %PDS médias observadas com a utilização dos sucos de Araçá-boi, Taperabá e Umbú não diferiram estatisticamente entre si.
- A %PDS média obtida com a utilização do suco de Camu-camu não diferiu estatisticamente apenas da %PDS média obtida para o suco de Taperabá.

Tabela 2.5.4.c – %PDS após 72 horas – Resultados do teste de Tukey HSD

Tratamento	Água 3,33	Ácido Cítrico 50,69	Araçá- boi 77,85	Camu- camu 65,34	Cupuaçu 53,80	Taperebá 74,80	Umbú 77,29
Água		<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01
Ácido	<0,01		<0,01	<0,01	0,97	<0,01	<0,01
Araçá-boi	<0,01	<0,01		0,02	<0,01	0,97	1,00
Camu-camu	<0,01	<0,01	0,02		0,04	0,10	0,02
Cupuaçu	<0,01	0,97	<0,01	0,04		<0,01	<0,01
Taperebá	<0,01	<0,01	0,97	0,10	<0,01		0,99
Umbú	<0,01	<0,01	1,00	0,02	<0,01	0,99	

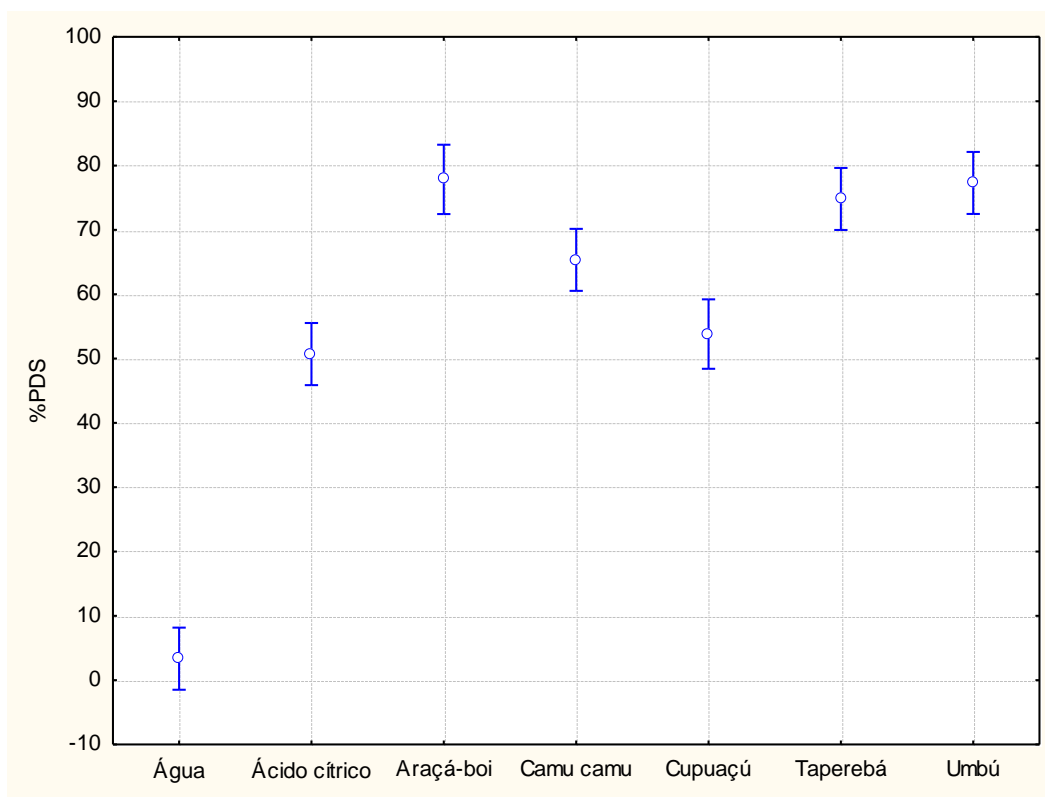


Figura 2.5.4 – Médias e intervalos de confiança (95%) para a variável %PDS segundo o suco considerado após 72 horas.

9.2.6 – ÁREA SOB A CURVA

a) Síntese das respostas observadas

Uma idéia geral das respostas da área em função dos tratamentos pode ser obtida na tabela 2.6.a e visualizada na figura de mesmo número.

Tabela 2.6.a – Análise descritiva para a área sob a curva segundo o tratamento.

Tratamentos	Estimativa da Média	Desvio Padrão Estimado	Erro Padrão da Estimativa	Número de Observações
Água	588,02	30,07	8,68	12
Ácido Cítrico	505,65	47,32	13,66	12
Araçá-boi	508,69	40,41	11,67	12
Camu-camu	522,06	39,66	11,45	12
Cupuaçú	509,34	55,10	15,91	12

Taperebá	509,88	46,84	13,52	12
Umbú	490,13	60,14	17,36	12

b) Inferência Estatística

Observa-se na análise de variância, descrita na tabela 2.1.b, a significância dos tratamentos ($p = 0.0001$), sugerindo a ocorrência de diferentes áreas médias conforme o tratamento. Tais diferenças podem ser localizadas na tabela 2.6.c, por meio dos p – valores resultantes do teste de comparações múltiplas de Tukey HSD.

Tabela 2.6.b – Análise de variância da variável área.

Variações Consideradas	GL	Somas de Quadrados	Quadrados Médios	$F_{\text{Calculado}}$	Valor p
Tratamentos	6	72814,5848	12135,7641	5,5907	0,0001
Resíduo	77	167145,5433	2170,7213		
Total	83	239960,1281			

Pela tabela 2.6.c observa-se que:

- A área média obtida com a utilização da água foi estatisticamente maior que as áreas médias obtidas para todas as demais substâncias testadas.
- A área média obtida com a utilização do Ácido cítrico não foi estatisticamente diferente ($p > 0.05$) da área média observada com a utilização dos sucos de frutas da região amazônica.
- A área média obtida com a utilização dos sucos de frutas da Amazônia não diferiram estatisticamente entre si.

Tabela 2.6.c – Área sob a curva – Resultados do teste de Tukey HSD

Tratamento	Água	Ácido Cítrico	Araçá-boi	Camu-camu	Cupuaçu	Taperebá	Umbú
	588,02	505,65	508,69	522,06	509,34	509,88	490,13
Água		<0,01	<0,01	0,01	<0,01	<0,01	<0,01
Ácido	<0,01		1,00	0,98	1,00	1,00	0,98
Araçá-boi	<0,01	1,00		0,99	1,00	1,00	0,96
Camu-camu	0,01	0,98	0,99		0,99	1,00	0,63

Cupuaçu	<0,01	1,00	1,00	0,99		1,00	0,95
Taperebá	<0,01	1,00	1,00	1,00	1,00		0,94
Umbú	<0,01	0,98	0,96	0,63	0,95	0,94	

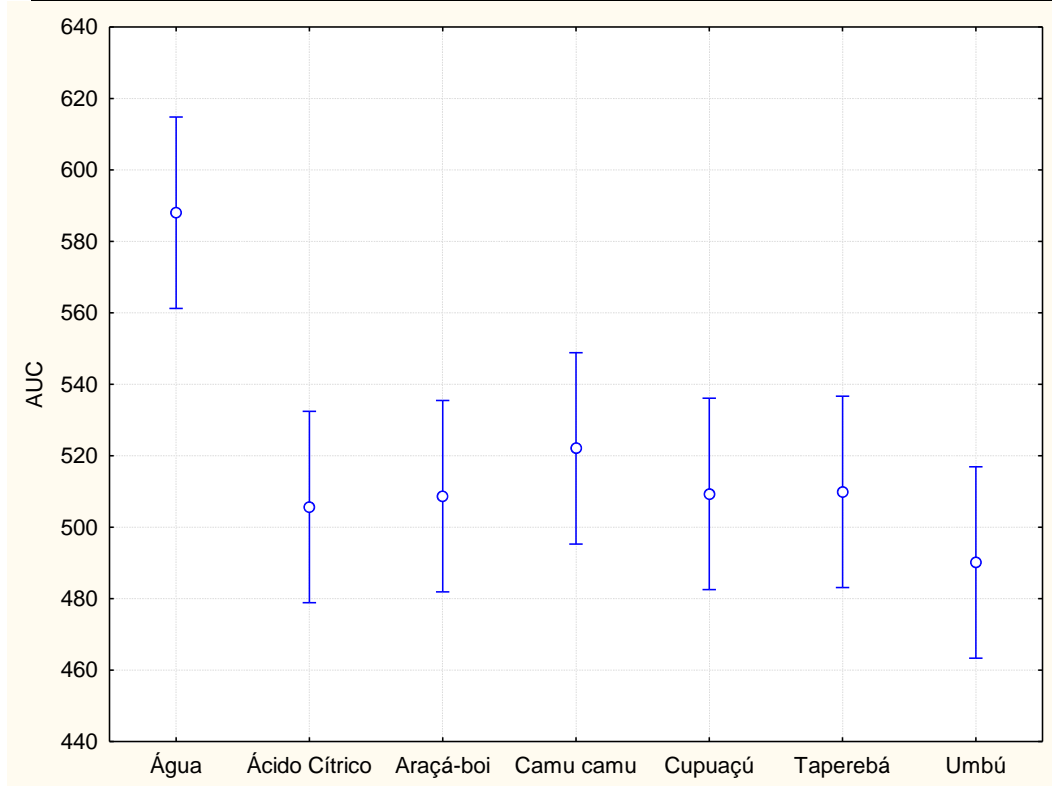


Figura 2.6 – Médias e intervalos de confiança (95%) para a variável área sob a curva segundo o suco.